

Sílvia Marisa Moreira Azevedo

Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Sílvia Marisa Moreira Azevedo

Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2014

Sílvia Marisa Moreira Azevedo

Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Declaro que o presente trabalho foi efetuado na íntegra por mim, sendo que todo o material bibliográfico utilizado se encontra devidamente referenciado.

Aluno:

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para a obtenção do grau
de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação
do Prof. Doutor João Carlos Sousa

Porto, 2014

Resumo

Os beta-lactâmicos, que atuam inibindo a última etapa da biosíntese da parede celular bacteriana, constituem a família mais numerosa de antibióticos e a mais utilizada na antibioterapia. Todos os compostos, naturais ou sintéticos, deste grupo (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos e monobactamos) são caracterizados por possuírem um anel beta-lactâmico com uma cadeia lateral variada, que explica as características, espectros de ação e resistências às beta-lactamases de cada antibiótico.

Trata-se de compostos de ação bactericida lenta que interferem na síntese do peptidoglicano. São dependentes da concentração plasmática, apresentam escassa toxicidade devido ao elevado tropismo para as células bacterianas, possuindo uma ampla margem terapêutica. O seu espectro de ação tem ampliado ao longo dos anos devido à incorporação de novas moléculas com maior atividade principalmente frente a bactérias Gram-positivo, mas o aparecimento progressivo de resistências tem limitado o seu uso e a sua eficácia em determinadas situações. É urgente desenvolver novas moléculas e técnicas para ultrapassar estas vantagens das bactérias, de forma a não perder a eficácia desta família de antibióticos de extrema importância para a Saúde Pública.

Abstract

The beta-lactam antibiotics, which act by inhibiting the last step of the biosynthesis of the bacterial cell wall, constitute the largest family of antibiotics and the most used in antibiotic therapy. All the compounds, natural or synthetic, from this group (penicillins, cephalosporins, monobactams and carbapenems) are characterized by having a beta-lactam ring with a wide side chain, which explains the characteristics, spectrum of action and resistance to beta-lactamases of each antibiotic.

They are compound of slow bactericidal action that interferes with the synthesis of peptidoglycan. They are dependent on the plasma concentration, exhibit little toxicity due to the high tropism for bacterial cells having a wide therapeutic margin. Its spectrum of action has expanded over the years due to the incorporation of new molecules with increased activity, mainly against Gram-positive bacteria, but the gradual emergence of resistance has limited its use and its effectiveness in certain situations. It is urgent to develop new molecules and techniques to overcome these advantages of bacteria, so as not to lose the effectiveness of this family of antibiotics which is extremely important to public health.

Dedicatória

*“ Eu não sou quem eu gostaria de ser,
eu não sou quem eu poderia ser,
ainda, eu não sou quem eu deveria ser.
Mas graças a Deus, eu não sou mais quem eu era!”*

Martin Luther King

Dedico aos meus país, irmão e namorado,
por valorizarem tudo quanto sou no mínimo que faço,
por acreditarem sempre em mim e
por me darem esta oportunidade.

Agradecimentos

Agradeço encarecidamente ao Prof. Doutor João Carlos Sousa, orientador desta tese de mestrado, pelo seu apoio, por toda a disponibilidade fornecida e total partilha de conhecimentos.

Aos meus pais e irmão, pela sua presença constante e apoio incondicional.

Ao meu namorado, meu pilar e meu refúgio, presente a todas as horas em todos os momentos.

Ao Dr. Gonçalo Souto pela sua excecional ajuda, tal como a todos os meus amigos, sempre ouvintes dos meus desabafos e frustrações, mas sempre com palavras de incentivo.

E a todos, a todos aqueles que contribuíram para a minha formação e fizeram de mim o que sou hoje.

Agradeço do fundo do coração, pois:

*“A mente que se abre a uma nova ideia,
jamais voltará ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

Lista de abreviaturas

- 3-AMA: Ácido 3-aminobactâmico
- 6-APA: Ácido 6-aminopenicilânico
- 7-ACA: Ácido 7-aminocefalosporânico
- ABC: ATB-Binding Cassete
- CBM: Concentração bactericida mínima
- CMI: Concentração mínima inibitória
- ESBL: Extended-spectrum beta-lactamases
- FDA: Food and Drug Administration
- IM: Intra-muscular
- IV: Intra-venoso
- MATE: Multidrug and Toxic compound Extrusion
- MDR: Multidrug-resistant
- MFC: Major Facilitator Superfamily
- MRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina
- NAG: N-acetilglucosamina
- NAMA: Ácido N-acetilmurânico
- PBP's: Penicilina-binding-proteins
- RND: Resistance-Nodulation-Division
- SMR: Major Facilitator Superfamily
- T: Tempo
- T>CMI: Tempo durante o qual a concentração livre no sangue é superior à CMI
- Vd: Volume de distribuição
- VISA: *Staphylococcus aureus* com resistência intermediária à vancomicina
- VRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina

Índice Geral

I.Introdução.....	1
II.História dos antibióticos	3
III.Os beta-lactâmicos.....	7
1. Química	7
i. Penicilinas.....	9
ii. Cefalosporinas.....	11
.iii. Carbapenemos.....	14
i Monobactamos.....	16
v Inibidores das beta-lactamases	17
IV.Mecanismo de ação	19
1. Biosíntese do peptidoglicano e a interferência dos beta-lactâmicos	21
2. Espectro de atividade antibacteriano.....	24
V.Farmacocinética.....	25
1. Absorção.....	26
2. Distribuição	27
3. Metabolização	29
4. Eliminação.....	29
VI.Farmacodinâmica	31
VII.Efeitos adversos	35
VIII.Interações.....	38
IX.Resistências aos beta-lactâmicos.....	40
1. Beta-lactamases	41
i. Serino-beta-lactamases	44
ii Metalo-beta-lactamases.....	44
2. Modificação dos alvos (PBP's)	46
3. Impermeabilização da membrana externa.....	47
4. Bombas de efluxo	47
X.Uso clínico dos antibióticos beta-lactâmicos.....	49
XI.Conclusão	51
XII.Bibliografia	53

Índice de figuras

Figura 1 - Retrato de Thomas Sydenham.	3
Figura 2 - Placa de Petri encontrada por Alexandre Fleming – Grande colônia de <i>Penicillium notatum</i> , seguida de um halo de inibição, e só depois as colônias normais de <i>Staphylococcus aureus</i>	4
Figura 3 - Diagrama ilustrativo da descoberta dos antibióticos.	5
Figura 4 - Representação do anel beta-lactâmico presente em todo o grupo. (Disponível em http://www.cram.com/flashcards/antibacs-i-anaerobes-opporinfections-3059782).	7
Figura 5 - Estrutura da penicilina comparada (superior) com as cefalosporinas (inferior) (Rosário e Grumach, 2006)	9
Figura 6 - Estrutura geral das penicilinas (Wright, 1999).	10
Figura 7 - Desenvolvimento das formas semi-sintéticas da penicilina. (Rolinson, 1998)	11
Figura 8 - Estrutura química do ácido 7-aminocefalosporânico (Disponível em http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=24&id_detalhe=654&tipo_detalhe=s)	12
Figura 9 - Estrutura química dos carbapenemos (Papp-Wallace <i>et al.</i> , 2011)	14
Figura 10 - Estrutura química do imipenemo, meropenemo e ertapenemo (Papp-Wallace <i>et al.</i> , 2011)	15
Figura 11 - Estrutura química dos monobactams. (Disponível em http://cmgm.stanford.edu/biochem200/04Theriot/04theriot.htm)	16
Figura 12 - Estrutura química do aztreonamo. (Disponível em http://www.google.com/patents/EP1527072A1?cl=en)	16
Figura 13 - Inibidores das beta-lactamases com os respectivos antibióticos à qual são associados e a sua estrutura química.	17
Figura 14 - Estrutura celular de um procariota e de um eucariota. (Disponível em http://osegredodabiovida.blogspot.pt/2011/01/organizacao-e-regulacao-do-material.html)	19
Figura 15 - Monômero do peptidoglicano (Disponível em http://www.detectingdesign.com/antibioticresistance.html)	20
Figura 16 - Esquema da formação da parede celular (Suarez e Gudiol, 2009)	22
Figura 17 - Mecanismo de ação dos beta-lactâmicos. A: Inibição da formação da parede celular; B: Ativação de endolisinas (Suarez e Gudiol, 2009)	23
Figura 18 - Permeação da parede celular das bactérias Gram-negativo e Gram-positivo por beta-lactâmicos (Sousa, 2006)	24
Figura 19 - Esquema generalizado da farmacocinética dos fármacos (Moura e Reyes, 2002).	26

Figura 20 - Comparação do T > CMI de beta-lactâmicos, em função da via de administração e da sua CMI (Suarez e Gudiol, 2009).....	32
Figura 21 - Imagem ilustrativa das principais resistências desenvolvidas pelas bactérias aos antibióticos. (Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mec_animacao.htm)	41
Figura 22 - Local de ataque das beta-lactamases nas penicilinas e nas cefalosporinas. (Disponível em http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Beta-Lactamases&lang=1).....	41
Figura 23 - Hidrólise do anel beta-lactâmico devido à atividade de uma beta-lactamase.(Zeba, 2004).....	42
Figura 24 - Mecanismo de inativação dos beta-lactâmicos por beta-lactamases com serina no seu centro ativo (Silva e Lincopan, 2012).....	44
Figura 25 - Hidrólise do imipenemo por uma metalo-beta-lactamase (Zhai <i>et al.</i> , 2012).....	45
Figura 26 - Ilustração do comportamento do beta-lactâmico em contacto com uma membrana externa impermeável. (Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/image/alteracao_permeabilidade.jpg)	47
Figura 27 - Parâmetros a ter em conta na escolha de um antibiótico para tratamento	49

Índice de tabelas

Tabela 1 - Estrutura química dos principais grupos de beta-lactâmicos (Suarez e Gudiol, 2009).....	8
Tabela 2 - Cefalosporinas: Gerações, características, espectro de ação e exemplos (Asbel e Levison, 2000; Sousa, 2006).....	13
Tabela 3 - Quadro resumo das fases da biossíntese do peptidoglicano e as respectivas características (Sousa, 2006)	21
Tabela 4 - Fatores que influenciam a biodisponibilidade de um fármaco (Moura e Reyes, 2002)	26
Tabela 5 - Valores aproximados de volume de distribuição de alguns beta-lactâmicos (adulto saudável de 70kg) (Sousa, 2006)	28
Tabela 6 - Parâmetros farmacocinéticos de alguns beta-lactâmicos (Cavallo <i>et al.</i> , 2004).....	30
Tabela 7 - Tipos de reações imunológicas provocadas por beta-lactâmicos (Sousa, 2006).....	36
Tabela 8 - Interações de alguns beta-lactâmicos (Cavallo <i>et al.</i> , 2004)	38
Tabela 9 - Descrição resumida da classificação proposta por Bush (Bush et al., 1995) ..	43
Tabela 10 - Indicação terapêutica de alguns beta-lactâmicos (adaptado de Prontuário Terapêutico 11).....	50
Tabela 11 - Novos beta-lactâmicos em estudo (Coates <i>et al.</i> , 2011).....	51

I. Introdução

As doenças infecciosas de etiologia bacteriana foram sempre um grave problema para as sociedades, não só pela sua fácil e rápida propagação, como pela elevada mortalidade e morbilidade que causam. O tratamento destas infeções requer o uso terapêutico de antibióticos (Aminov, 2010).

Presentemente o armamentário terapêutico contra as infeções bacterianas é constituído por uma grande diversidade de moléculas inibidoras do crescimento (bacteriostase) ou com ação destrutiva das bactérias (bactericida) (Talbot, 2013).

Dado o facto de as células bacterianas possuírem uma estrutura procariota, com parede celular com peptidoglicano, ribossomas do tipo 70s, bem diferente da organização celular eucariótica no Homem, os antibióticos antibacterianos são considerados compostos etiotrópicos (Sousa, 2006).

Trata-se portanto de moléculas com uma especificidade de ação anti-bacteriana e praticamente desprovidas de efeitos deletérios sobre as células do Homem. No entanto é evidente que os antibióticos quando usados durante longo tempo e sobretudo em doses exageradas, podem causar efeitos nocivos sobre o Homem (Sousa, 2006).

É geralmente aceite uma classificação farmacológica dos antibióticos de acordo com o seu mecanismo de ação: I: antibióticos anti-parietais; II: antibióticos anti-membranares; III: antibióticos inibidores da síntese dos ácidos nucleicos; IV: antibióticos inibidores da síntese proteica; e V: antibióticos anti-metabólicos (Coates *et al.*, 2011; Sousa, 2006; Leekha *et al.*, 2011).

Os antibióticos beta-lactâmicos, anti-parietais, são os mais utilizados na antibioterapia clínica (Suarez e Gudíol, 2009) e por isso serão o objetivo primordial deste trabalho.

Alexander Fleming em 1928 descobre o primeiro antibiótico, a penicilina, sendo por isso considerado o “pai dos antibióticos”. A penicilina é um antibiótico beta-lactâmico, anti-parietal e dotado de baixa toxicidade (Koyama *et al.*, 2012; Suarez e Gudíol, 2009).

Com esta descoberta criou-se uma enorme expectativa, acreditando-se que as doenças infecciosas estariam terminadas, mas o aparecimento de estirpes de *S. aureus* produtoras de beta-lactamases plasmídicas rapidamente quebraram essa ideia. Estas estirpes

inativavam as penicilinas tornando estes antibióticos ineficazes (Coates *et al.*, 2002; Sousa, 2006; Suarez e Gudiol, 2009).

A prática de antibioterapia veio a demonstrar que o uso sistemático de antibióticos promove a seleção de estirpes resistentes aos antibióticos.

A incidência crescente de estirpes bacterianas resistentes aos beta-lactâmicos promove à pesquisa de novas moléculas dentro deste grupo, bem como a pesquisa de outros antibióticos naturais ou de síntese química com diferente composição química e com outros mecanismos de ação (Sousa, 2006).

A utilização farmacológica dos antibióticos é muito complexa, pois requer também conhecer a sua farmacocinética e farmacodinamia, bem como os seus efeitos secundários e interações com outros medicamentos.

É por esta razão que escolhi este tema para defesa da minha tese de mestrado. É um tema complexo e multidisciplinar, envolvendo conhecimentos de microbiologia, farmacologia e genética.

II. História dos antibióticos

Na antiguidade, acreditava-se que a doença poderia ser causada por diversos fatores tanto naturais como sobrenaturais. Eram muitas vezes relacionadas com crenças religiosas, ou com o ambiente, com insetos ou outros animais, com o clima, entre outros. Foi sempre primordial para os médicos, tentar descobrir compostos com capacidade para combater as fortes epidemias que dizimavam as populações (Canesqui, 2003).



Figura 1 - Retrato de Thomas Sydenham.

Desde o século XVI, estão reportados vários casos de sucesso, onde eram utilizados composto naturais com capacidade para tratar diversas doenças. Como o caso de Thomas Sydenham (Figura 1) conhecido como o "Hipócrates Inglês", que utilizou a casca da cinchona no tratamento da malária, descobrindo-se mais tarde que a quinina era responsável pelo efeito terapêutico.

Mas só no século XIX as bactérias foram consideradas agentes etiológicos de diversas doenças infecciosas. Com este grande avanço, foi possível começar a procura de regimes terapêuticos adequados, assim como medidas preventivas, diminuindo as taxas de mortalidade e morbidade em todo o mundo.

A primeira definição geral para o termo de antibiótico foi proposta por Selman Abraham Waksman, considerado por alguns o "pai dos antibióticos" (Kresge *et al.*, 2004), afirmava que antibiótico era qualquer classe de moléculas orgânicas que inibiam ou matavam micróbios por interações específicas com alvos bacterianos, mas sem qualquer consideração sobre a sua fonte ou classe em particular. É apenas uma simples descrição do efeito e do uso (Davies e Davies, 2010).

É em 1928 que acontece o evento que revolucionou a história da medicina. A descoberta da penicilina acontece apenas por acaso, de forma acidental. Sir Alexander Fleming apresenta a maior arma já descoberta para o tratamento de doenças infecciosas. Em Agosto desse ano, Alexander, diretor do Departamento de Bacteriologia no St.

Mary's em Londres, regressa ao seu laboratório depois de duas semanas de férias. É então que observa uma placa de Petri usada e comenta com o seu assistente o que observava: "That's funny" (Ligon, 2004). O que Fleming reconheceu como "engraçado" foi o facto de na placa haver um grande halo vazio à volta da cultura de *Staphylococcus* devido à contaminação pelo fungo *Penicillium notatum*. Ou seja, observou que as colónias de *Staphylococcus* tinham a capacidade de crescer em toda a placa, exceto nas zonas perto da contaminação fúngica (Figura 2), concluindo assim, que o fungo *Penicillium* teria alguma capacidade para inibir o crescimento bacteriano, através da substância antiestafilocócica que produzia, conhecida posteriormente como penicilina.



Figura 2 - Placa de Petri encontrada por Alexandre Fleming – Grande colónia de *Penicillium notatum*, seguida de um halo de inibição, e só depois as colónias normais de *Staphylococcus aureus*.

Foram necessários 11 anos para que uma equipa de investigadores da Universidade de Oxford, liderada por Ernst Chain e Howard Florey, conseguisse isolar e purificar a penicilina. Sendo seguidamente relatados vários casos de sucesso onde a administração da penicilina resulta na cura da doença. Só após a Segunda Guerra Mundial foi possível às companhias farmacêuticas produzirem quantidades significativas de penicilina, começando imediatamente a ser administrado em casos de pneumonia, difteria, sífilis, gonorreia, escarlatina e em muitas outras infeções (Aminov, 2010; Davies e Davies, 2010).

Pela descoberta da penicilina e pelos seus efeitos curativos em diversas doenças infecciosas, Fleming, Chain e Florey recebem em 1945 o Prémio Nobel da Medicina.

Após esta descoberta, muitas foram as moléculas de antibióticos identificadas, como por exemplo a estreptomicina (1944) a partir de colónias de *Streptomyces griseus*, o cloranfenicol (1947) extraído de colónias de *Streptomyces venezuelae*, a vancomicina

(1956) e a gentamicina (1963) extraídas de colónias de *Streptomyces orientalis* e *Micromonospora purpurea*, respetivamente (Figura 3).

Até aqui, as descobertas foram todas de novas moléculas, até que nos anos 50 e 60, devido à evolução das técnicas de síntese química e dos processos de fermentação, foi possível a criação de novas moléculas, por modificações no núcleo base da penicilina, o ácido 6-aminopenicilânico (6-APA). Com a descoberta do ácido aminocefalosporânico (7-ACA), foi possível obter moléculas semi-sintéticas derivadas da cefalosporina C (Sousa, 2006).

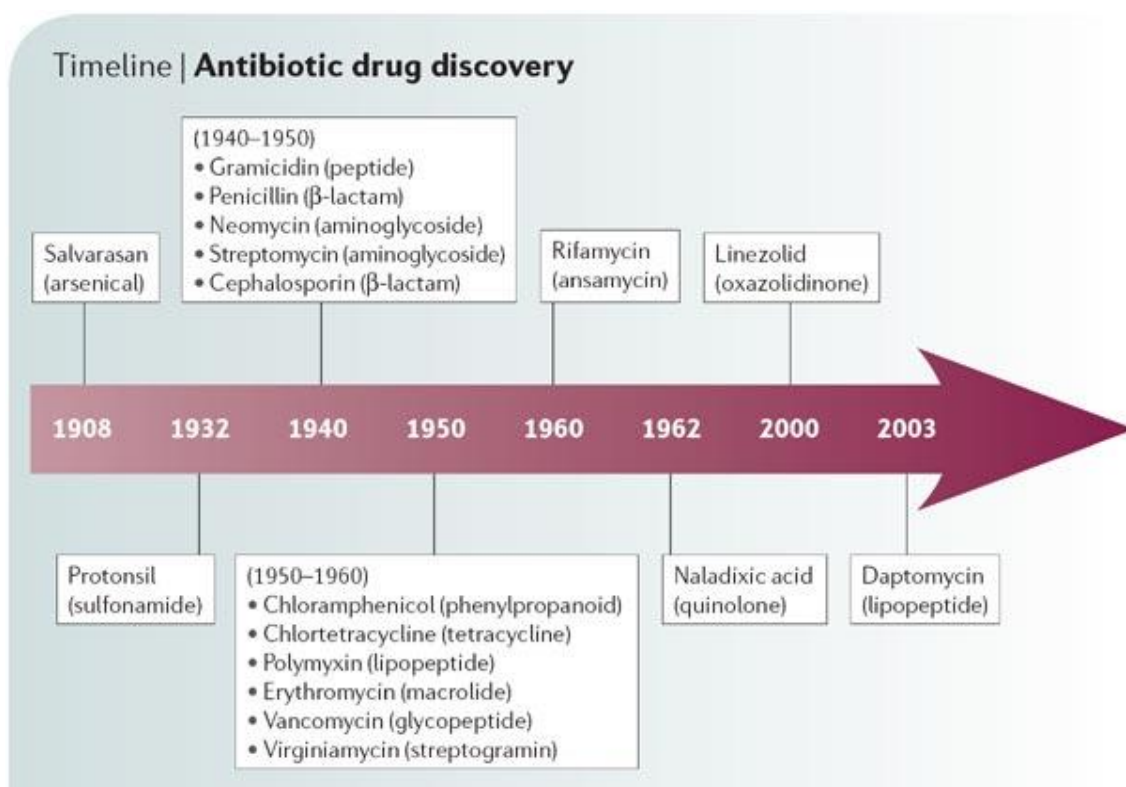


Figura 3 - Diagrama ilustrativo da descoberta dos antibióticos.

A aquisição de resistências pelas bactérias a estas moléculas estimulou o aumento da pesquisa de novos antibióticos, levando ao aparecimento de cefalosporinas de terceira geração (cefotaxima em 1981), os carbapenemos (imipenemo em 1985) e os monobactams (aztreonamo em 1986). Ao mesmo tempo, produzem-se novas penicilinas, como as ureidopenicilinas e começa a usar-se associações de antibióticos com inibidores das beta-lactamases, como a amoxicilina com ácido clavulânico (1984) e a ampicilina com o sulbactam em 1985 (Cavallo *et al.*, 2004).

O uso abusivo e por vezes inapropriado dos antibióticos, em especial dos beta-lactâmicos, modificou em grande escala a ecologia bacteriana, promovendo o aumento da incidência de estirpes resistentes aos antibióticos.

A par da história dos beta-lactâmicos, surge o desenvolvimento das resistências por parte das bactérias a estes, sendo que a primeira beta-lactamase foi identificada em *S. aureus* em 1944, e até os dias de hoje, muitas outras foram descobertas.

Em 2006 é revelado por estudo pela Nature Biotechnology uma informação preocupante. Desde 1998 apenas quatro antibióticos exibiram um novo mecanismo de ação ou uma diferença significativa a nível de estrutura química, aprovados pela Food and Drug Administration (FDA). Isto significa que é necessário implementar medidas para as boas práticas no uso de antibióticos e incentivar a pesquisa de novas moléculas, para que a Saúde Pública seja salvaguardada, não retrocedendo a uma era pré-antibiótica (Katz *et al.*, 2006).

III. Os beta-lactâmicos

1. Química

Os beta-lactâmicos são um grupo de antibióticos que se define pela presença do anel beta-lactâmico, sendo uma classe de elevada importância devido à sua excelente eficácia terapêutica e baixa toxicidade.

O anel beta-lactâmico determina não só o mecanismo de ação, sendo esse a inibição da síntese do peptidoglicano; como também a baixa toxicidade direta, visto que atuam na parede celular e esta não está presente nas células eucariotas do Homem. É também determinante no principal mecanismo de resistência por parte das bactérias, as beta-lactamases (Suarez e Gudiol, 2009). O anel beta-lactâmico é constituído por 3 átomos de carbono e um de nitrogénio (Figura 4), podendo conter diversos radicais substituintes que o tornam ativo.

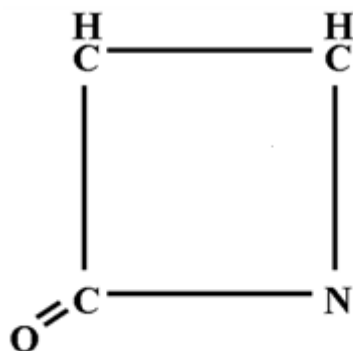

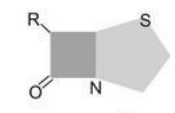
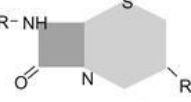
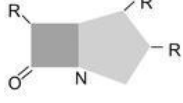
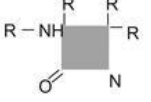
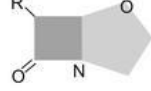


Figura 4 - Representação do anel beta-lactâmico presente em todo o grupo. (Disponível em <http://www.cram.com/flashcards/antibacs-i-anaerobes-opporinfections-3059782>)

A família dos beta-lactâmicos não é homogênea, isto é, apesar de todos possuírem o anel beta-lactâmico, a sua química não é igual, podendo conter diferentes tipos de cadeias lineares, diferenciando assim as suas características, espectros de ação e resistências às beta-lactamases. Como demonstra a Tabela 1, dependendo dos anéis presentes, formam-se 4 subfamílias de beta-lactâmicos.

Tabela 1 - Estrutura química dos principais grupos de beta-lactâmicos (Suarez e Gudiol, 2009)

 Anillo betalactâmico + Anillo secundario = Núcleo del betalactâmico → GRUPO ANTIBIÓTICO			
	Anillo tiazolidínico	Ácido 6-aminopenicilánico	PENICILINAS
	Anillo dihidrotiacínico	Ácido 7 α -cefalosporínico	CEFALOSPORINAS
	Anillo pirrolínico	Carbapenemo	CARBAPENEMAS
	Ninguno	Monobactamo	MONOBACTÁMICOS
	Anillo oxazolidínico	Clavamo/oxapenamo	ÁCIDO CLAVULÁNICO ^a

^aTodos los inhibidores de las betalactamasas que se usan en la práctica (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam) tienen estructura betalactámica. El sulbactam y el tazobactam son derivados sulfónicos del ácido penicilánico.

Assim, a família dos beta-lactâmicos é formada por carbapenemos, penicilinas, cefalosporinas e monobactamos. Os inibidores das beta-lactamases, como o ácido clavulânico, são também considerados beta-lactâmicos, visto possuírem igualmente a estrutura base.

O anel beta-lactâmico pode estar fundido com diversos anéis, criando cada grupo desta família. Pode ser um anel tiazolidina, no caso das penicilinas, anel dihidrotiazina, no caso das cefalosporinas, ou anel pirrólico nos carbapenemos. Os monobactamos não possuem nenhum anel fundido ao anel principal.

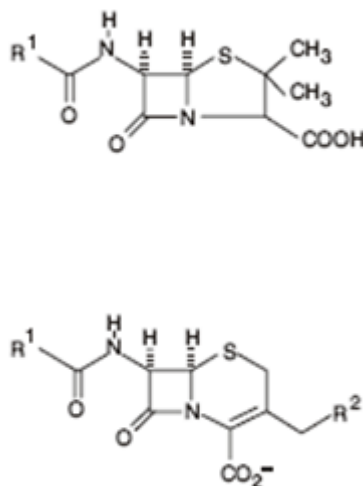


Figura 5 - Estrutura da penicilina comparada (superior) com as cefalosporinas (inferior) (Rosário e Grumach, 2006)

Como se pode observar pela Figura 5, tanto nas penicilinas como nas cefalosporinas existem locais onde podem ser adicionados diversos radicais (R1 e R2) que permitem modificar diversas propriedades da molécula base. Desde esta descoberta, há um enorme esforço por parte dos cientistas para tentar melhorar a estrutura básica de forma a obter moléculas mais solúveis, com diferentes vias de administração, com melhor farmacocinética, com amplo espectro de ação, resistente ao suco gástrico, entre muitas outras possibilidades (Sousa, 2006).

É então a partir do ácido 6-aminopenicilânico (6-APA) no caso das penicilinas e do ácido 7-aminocefalosporânico (7-ACA) para as cefalosporinas, obtidos por fermentação ou via química, que são produzidos vários antibióticos por semi-síntese.

i. Penicilinas

As penicilinas foram o primeiro verdadeiro antibiótico a ser desenvolvido e utilizado contra bactérias patogénicas no ser humano. Atualmente continuam a ser dos antibióticos mais importantes na terapêutica.

Na Figura 6 encontra-se representada a estrutura geral das penicilinas, com o anel beta-lactâmico, o anel tiazolidina e a cadeia lateral.

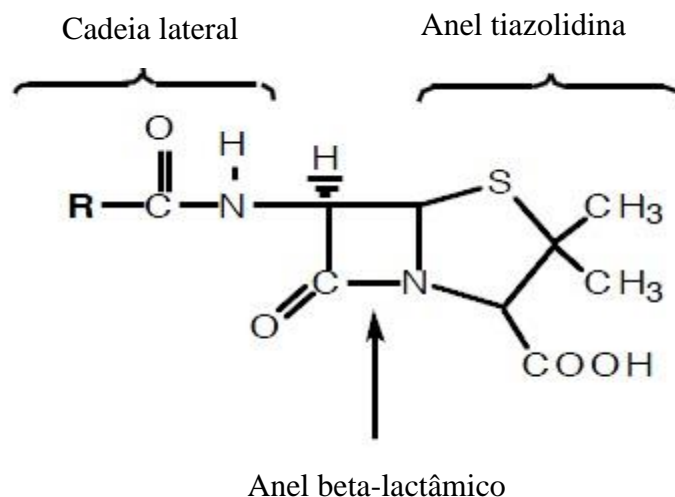


Figura 6 - Estrutura geral das penicilinas (Wright, 1999).

A penicilina natural é produzida pelo *Penicillium chrysogenum*. Se forem adicionados determinados precursores ao meio de cultura, são produzidos diferentes antibióticos. Por exemplo, se adicionar-se ácido fenilacético é produzido Penicilina G, também denominada de benzilpenicilina. Se for adicionado ácido fenoxiacético consegue-se obter a penicilina V ou fenoximetilpenicilina (Wright, 1999).

A introdução da penicilina na medicina modificou por completo o tratamento das doenças infecciosas, sendo ativas contra vários bacilos e cocos Gram-positivo e Gram-negativo. Mas estas penicilinas têm diversas desvantagens, principalmente pelo facto de serem suscetíveis à ação das beta-lactamases e pela sua rápida eliminação pelo organismo.

Com o intuito de ultrapassar estas dificuldades, e com a descoberta do ácido 6-aminopenicilânico, os investigadores começaram a desenvolver novas moléculas com melhores características, por exemplo, protegendo o anel, adicionando um composto volumoso, de forma a serem resistentes às beta-lactamases. Desta forma criaram-se novas moléculas assim como a meticilina, a nafcilina, as isoxazolilpenicilinas, as aminopenicilinas, as ureidopenicilinas e as carboxipenicilinas. Nasceram assim as penicilinas semi-sintéticas (Sousa, 2006).

O 6-APA pode ser obtido por fermentação a partir de *Penicillium chrysogenum* ou por técnicas químicas de degradação do antibiótico natural até ao estado de 6-APA.

Como pode ser observado na Figura 7 pode construir-se uma “árvore” com a hierarquia da família das penicilinas.

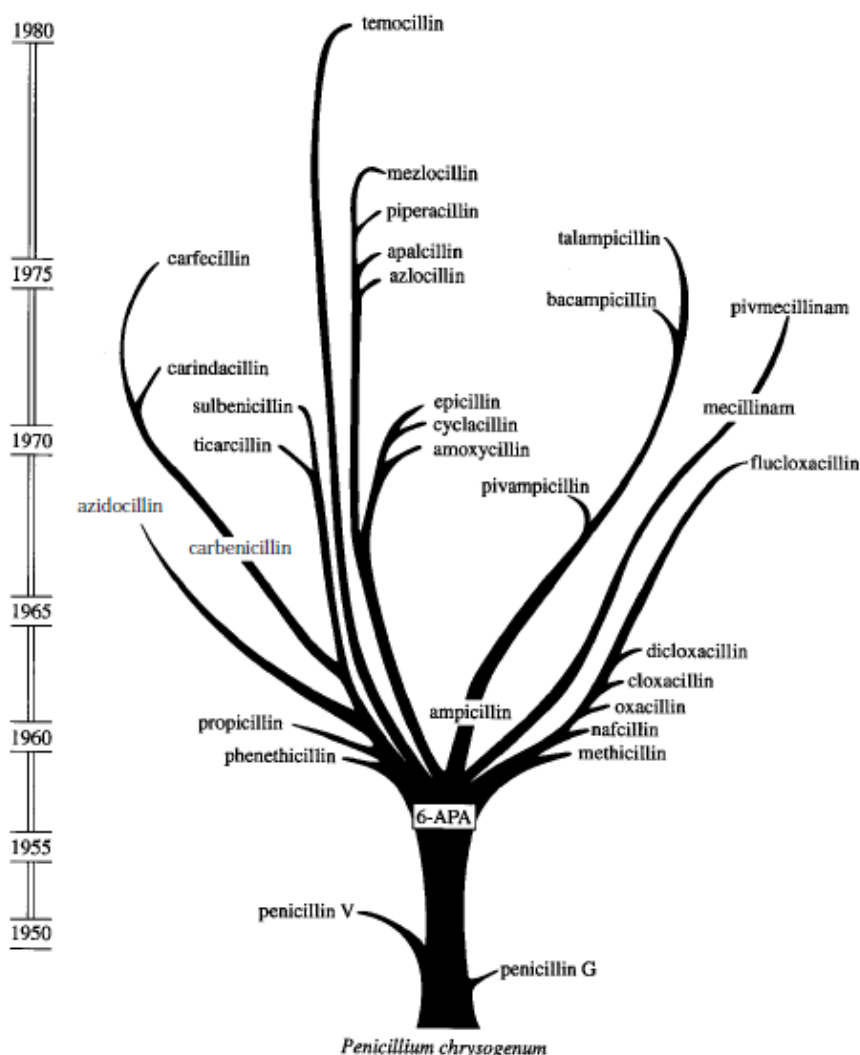


Figura 7 - Desenvolvimento das formas semi-sintéticas da penicilina. (Rolinson, 1998)

Outro método para ultrapassar os inconvenientes das penicilinas é a adição de outro composto químico com estrutura semelhante, que inibe a atividade da enzima beta-lactamase. São então utilizados o ácido clavulânico, o sulbactam e o tazobactam. Não são totalmente eficazes contra todos os tipos de beta-lactamases, mas ampliam o espectro de ação quando bem associados.

ii. Cefalosporinas

O grupo das cefalosporinas é extenso e está dividido em cinco gerações, dependendo do espectro bacteriano que exibem. Foi em 1945 que o professor da Universidade de

Cagliari em Itália, Giuseppe Brotzu descobriu a primeira cefalosporina, produzida pelo fungo *Cephalosporium acremonium*. Detetou ainda, que esta nova molécula tinha um espectro de ação mais alargado do que o conhecido pela penicilina G, o que o tornou desde logo muito interessante para desenvolvimento (Sharma *et al.*, 2011).

Só três anos mais tarde, uma equipa de investigadores de Oxford conseguiu identificar mais que um antibiótico produzido por este fungo. O primeiro, que foi isolado da mesma forma que a penicilina (com solvente orgânico) foi denominado de cefalosporina P. Um ano depois, foi identificado a cefalosporina N que se mantinha na fase aquosa depois da extração da cefalosporina P. Esta nova molécula era ativa contra bactérias Gram-negativo e Gram-positivo. Em 1953, Guy Nexton e Edward Abraham identificaram a cefalosporina C, também hidrófila e que apresentava propriedades muito interessantes (Muñiz *et al.*, 2007).

Mais tarde foi demonstrado que apenas a cefalosporina C pertencia mesmo a este grupo, ao contrário das restantes, a N quimicamente é uma penicilina e a P tem uma estrutura esteróide.

Em 1959 foi possível a observação do ácido 7-aminocefalosporânico (7-ACA) (Figura 8), e, que tal como o 6-APA nas penicilinas, foi importante para a enorme expansão de derivados semi-sintéticos visto ser possível a adição de grupos em dois locais distintos (R1 e R2).

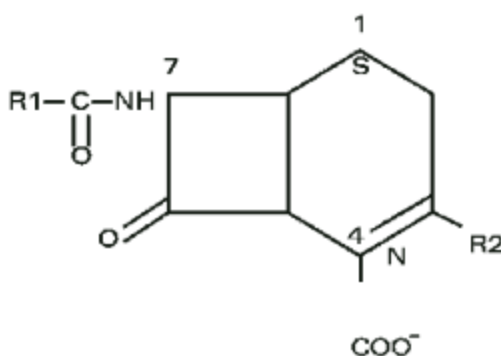


Figura 8 - Estrutura química do ácido 7-aminocefalosporânico (Disponível em http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=24&id_detalhe=654&tipo_detalhe=s)

Dependendo dos grupos químicos que são adicionados e do espectro de ação que possuem, podem agrupar-se então as cefalosporinas em 5 grupos, denominados por 1ª,

2^a, 3^a, 4^a e 5^a geração. Na Tabela 2 resume-se algumas das características destes grupos, tal como exemplos de cada um.

Tabela 2 - Cefalosporinas: Gerações, características, espectro de ação e exemplos (Asbel e Levison, 2000; Sousa, 2006)

Geração	Características	Espectro de ação	Exemplos
Primeira Geração	<p>União do acilo do cloreto de ácido, à função aminogénica do 7-ACA;</p> <p>Foram as primeiras a ser sintetizadas;</p>	<p>Efetiva contra algumas espécies de <i>Staphylococcus</i> e <i>Streptococcus</i> (não são a primeira escolha). Também eficazes contra <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Proteus mirabilis</i> Mais ativas sobre bactérias Gram positivas do que as de 2^a geração.</p>	<p>Cefalotina</p> <p>Cefaloridina</p> <p>Cefradina</p> <p>Ceradroxil</p> <p>Cefazolina</p> <p>Cefalexina</p> <p>Cefatrizina</p>
Segunda Geração	<p>Aparece na década de 70;</p> <p>Grupo metoximino na posição 7</p>	<p>Mais eficazes contra bactérias Gram-negativo produtores de beta-lactamases;</p>	<p>Cefamandol</p> <p>Cefaclor</p> <p>Cefuroxima</p> <p>Cefonicida</p> <p>Cefoxitina</p> <p>Cefotetan</p>
Terceira Geração	<p>Final da década de 70</p>	<p>Bactérias Gram-negativo e Gram-positivo;</p> <p>Usado em infeções hospitalares</p>	<p>Cefotaxima</p> <p>Cefsulodina</p> <p>Ceftazidima</p> <p>Cefoperazona</p> <p>Ceftiaxona</p> <p>Cefixima</p>
Quarta Geração	<p>Adição de grupos acídicos nas cadeias introduzidas na posição 7</p>	<p>Mesma atividade contra Gram-negativas, mas mais potentes para Gram-positivas do que os de terceira geração. Mais resistentes à degradação por beta-</p>	<p>Cefepime</p> <p>Cefpiroma</p>

		lactamases.	
Quinta Geração	Última geração, com enorme potencial devido ao seu espectro de ação contra bactérias multirresistentes. Mecanismo de ação ligeiramente diferente dos restantes beta-lactâmicos	Atividade contra estafilococos metilino-resistentes (MRSA, VISA, VRSA) • Sem ação contra <i>Pseudomonas</i>	Ceftaroline Ceftobiprole

iii. Carbapenemos

O grupo dos carbapenemos representa uma última linha no combate às infeções por bactérias resistentes, são os que têm maior espectro de ação contra bactérias Gram-negativo e Gram-positivo, incluindo os microrganismos produtores de ESBL, sendo verdadeiramente potentes. Tem ainda uma elevada penetração através dos canais de porina, apresentando ainda resistência contra a hidrólise da maioria das beta-lactamases. São sem dúvida uma forte arma no combate às bactérias (Bradley *et al.*, 1999).

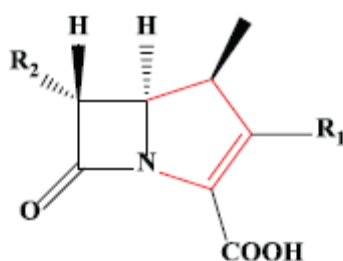


Figura 9 - Estrutura química dos carbapenemos (Papp-Wallace *et al.*, 2011)

Como pode ser observado na Figura 9 os carbapenemos possuem uma ligação insaturada ao anel anexo ao anel beta-lactâmico e possuem ainda hidroxietil com configuração *trans* na cadeia lateral, contrastando com os restantes beta-lactâmicos (Sousa, 2006).

O grande problema associado a este poderoso grupo são as carbapenemases, enzimas que reconhecem e hidrolisam quase todos os tipos de beta-lactâmicos (incluindo os carbapenemos), sendo também as mais resistentes aos comercializados inibidores de

beta-lactamases (Queenan e Bush, 2007). O aumento do uso desta classe de beta-lactâmicos provocou um aumento do número de estirpes resistentes a eles, devido à disseminação das carbapenemases plasmídicas.

Em Portugal existem 3 antibióticos deste grupo, apresentados na Figura 10:

- Imipenemo: produzido por *Streptomyces cattleya*, com tempo de semi-vida curto, mas com enorme espectro de ação. É usado apenas em ambiente hospitalar, via intramuscular (IM) ou intravenosa (IV) pois a sua absorção oral é reduzida, sendo apenas sugerido em casos de infeções agudas graves.
- Meropenemo: antibiótico de largo espectro e resistente à degradação por beta-lactamases, exceto por carbapenemases. É também apenas usado em última linha no combate a graves infeções e em ambiente hospitalar; mais ativo contra *Pseudomonas aeruginosa* que o imipenemo.
- Ertapenemo: usado em infeções graves na comunidade e sobretudo em ambiente hospitalar. Apresenta um espectro de ação mais reduzido; baixa concentração mínima inibitória (CMI) contra enterobactérias.

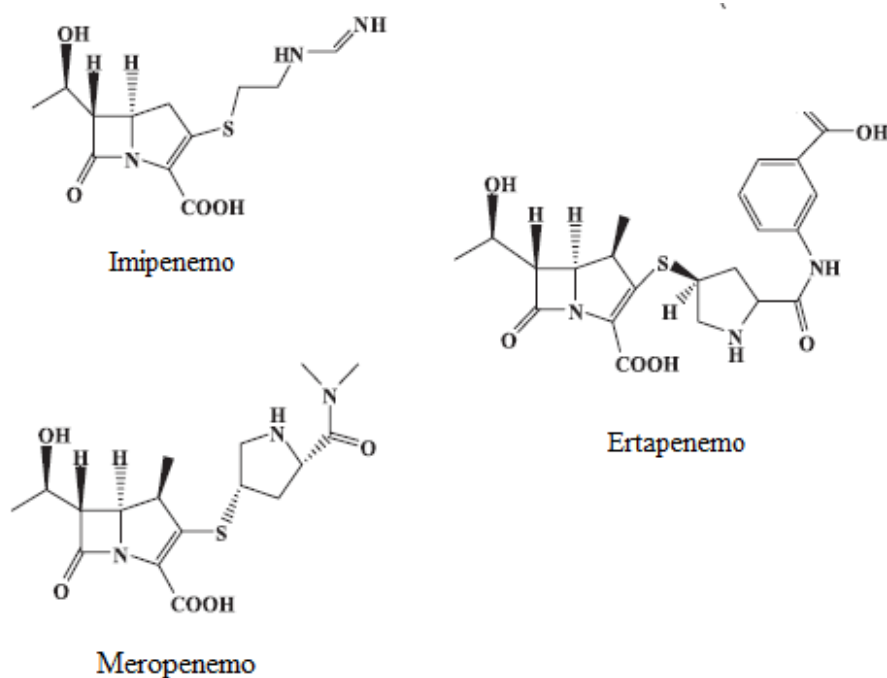


Figura 10 - Estrutura química do imipenemo, meropenemo e ertapenemo (Papp-Wallace *et al.*, 2011)

iv. Monobactams

Este grupo de antibióticos é o único monocíclico da família dos beta-lactâmicos, caracterizado por possuir na sua estrutura o grupo 2-oxoazetidina-1-sufónico (Figura 11).

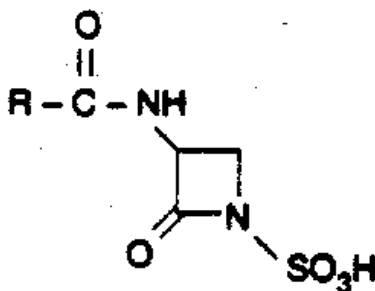


Figura 11 - Estrutura química dos monobactams. (Disponível em <http://cmgm.stanford.edu/biochem200/04Theriot/04theriot.htm>)

Os monobactams naturais não possuem elevada actividade antibacteriana, não tendo actividade contra microorganismos Gram-positivo ou anaeróbios estritos. Existem alguns compostos neste grupo, mas o único comercializado é o aztreonam (Figura 12), visto possuir elevada estabilidade para a maioria das beta-lactamases (igual ou superior às cefalosporinas de 3º Geração), sendo activo contra bactérias Gram-negativo aeróbias e facultativas (Georgopapadakou *et al.*, 1983).

Após a obtenção do ácido 3-aminobactâmico (3-AMA), foi possível criar novos antibióticos semi-sintéticos com maior ação antibacteriana, pela introdução de radicais químicos homólogos aos radicais dos beta-lactâmicos clássicos (Sousa, 2006).

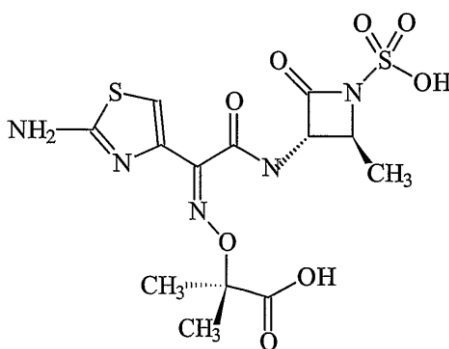


Figura 12 - Estrutura química do aztreonam. (Disponível em <http://www.google.com/patents/EP1527072A1?cl=en>)

O aztreonamo é apenas administrado por via IM ou IV devido à fraca absorção oral, sendo muito utilizado em casos de infeções do tracto urinário ou do tracto respiratório inferior.

v. Inibidores das beta-lactamases

Tal como referido anteriormente, a adição de compostos com capacidade para inibir as beta-lactamases, é uma das estratégias que se pode optar para diminuir os seus efeitos, sendo mesmo a mais importante e eficaz.

Os inibidores de beta-lactamases são estruturalmente semelhantes às penicilinas, contendo a ligação amida do grupo beta-lactâmico, mas possuem uma cadeia lateral modificada, apresentando assim uma estrutura bicíclica. Tais aspetos estruturais permitem aos inibidores ligar-se de forma irreversível às beta-lactamases como substratos suicidas, mantendo-as inativas. Permitem assim que a atividade do antibiótico principal seja restaurada (Lee *et al.*, 2001).

Existem 3 inibidores que são os mais utilizados na prática clínica, sendo eles o ácido clavulânico, o sulbactan e o tazobactan. Na Figura 13 apresenta-se a estrutura química destes inibidores e os antibióticos à qual são normalmente associados.

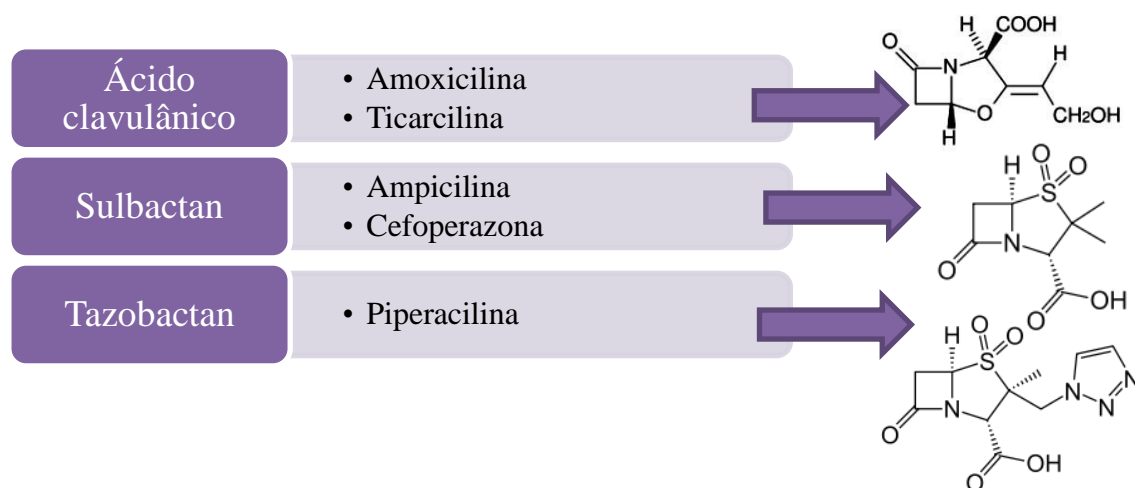


Figura 13 - Inibidores das beta-lactamases com os respetivos antibióticos à qual são associados e a sua estrutura química.

O ácido clavulânico foi isolado em 1976 a partir de *Streptomyces clavuligerus*. É um fraco inibidor das PBP's, actuando como um inibidor irreversível para beta-lactamases classe A. Inibe ainda as enzimas TEM, SHV das Enterobactérias, as beta-lactamases de

Haemophilus influenzae, de *Neisseria gonorrhoeae*, as ESBL's, entre muitas outras. Difere das penicilinas pelo facto de apresentar no anel anexo ao anel beta-lactâmico um átomo de oxigénio em vez de enxofre, apresentando assim um anel oxazolidínico (Sousa, 2006).

O sulbactan é uma sulfona do ácido penicilânico e inibe as beta-lactamases classe A, enquanto que o tazobactan inibe além destas, algumas de classe D e C.

IV. Mecanismo de ação

Para o tratamento de uma infecção, o ideal seria administrar um antibiótico que exercesse apenas o seu efeito nas bactérias, não prejudicando de qualquer forma as células humanas, ou seja, serem etiotrópicos. É então importante detetar quais são as diferenças entre estes dois tipos de células, para que estes tenham alvos específicos apenas nas bactérias.

Desde o aparecimento da microscopia eletrónica os seres vivos foram divididos em dois tipos: eucariotas e procarióticas, fazendo parte destes grupos as células humanas e as bactérias, respetivamente. Os procariotas têm uma estrutura celular muito simples, não contendo membrana nuclear, ou seja, não tem um núcleo organizado, nem possuem os organelos presentes nos eucariotas. Mas, contrastando com as células eucariotas do Homem, possuem parede celular, que reveste externamente a célula e contém uma macromolécula denominada de peptidoglicano (Sousa, 2006). Algumas destas diferenças são facilmente detetadas na representação das duas células (Figura 14).

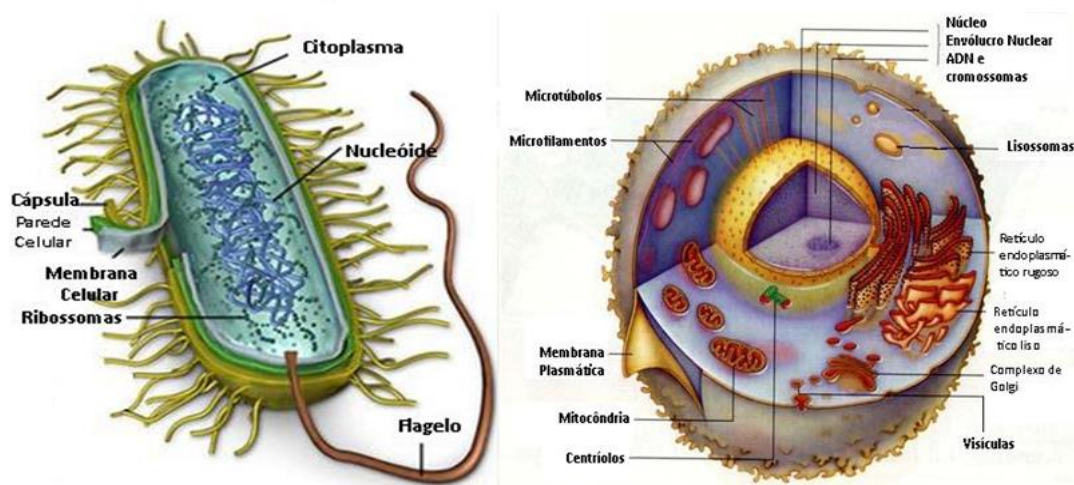


Figura 14 - Estrutura celular de um procariota e de um eucariota. (Disponível em <http://osegredodabiovida.blogspot.pt/2011/01/organizacao-e-regulacao-do-material.html>)

Os beta-lactâmicos atuam numa destas diferenças, sendo considerados antibióticos antiparietais.

São assim um grupo de antibióticos pouco tóxico para o Homem, isto porque tem um alvo que é apenas específico das células bacterianas. Ou seja, eles interferem na síntese do peptidoglicano, um componente existente da parede celular, que não se encontra nas

células humanas. Pode-se considerar então, que os beta-lactâmicos têm um tropismo elevado para a célula bacteriana (Fernandes *et al.*, 2013).

O peptidoglicano é então um componente essencial da parede celular bacteriana, que se encontra do lado de fora da membrana citoplasmática da maioria das bactérias. A sua principal função é preservar a integridade da célula quando esta se encontra em ambientes hipotônicos. Esta macromolécula tem tal importância, que qualquer tipo de inibição da sua biossíntese (mutação ou antibióticos antiparietais), ou de degradação (lisozimas), durante o crescimento celular, resultará na lise da célula, exercendo uma ação bacteriolítica. Contribui ainda para a manutenção da forma da célula e serve de suporte para outros componentes (Vollmer *et al.*, 2008).

A parede celular pode variar entre bactérias, tanto química como morfológicamente. Só assim é possível compreender as diferenças exibidas numa coloração de Gram, visto que as bactérias com parede celular com maior teor em peptidoglicano coram de roxo, denominadas Gram-positivo (retém o corante cristal violeta), e as bactérias com menor teor coram de vermelho, Gram-negativo. Este aspeto é muito importante, pois condiciona o espectro de ação dos antibióticos (Silhavy *et al.*, 2010).

O peptidoglicano é constituído por cadeias lineares de açúcares alternados, a N-acetilglucosamina (NAG) e o ácido N-acetilmurâmico (NAMA), como demonstra a Figura 15, podendo a sua química alterar ligeiramente entre diferentes bactérias (Scheffers e Pinho, 2005).

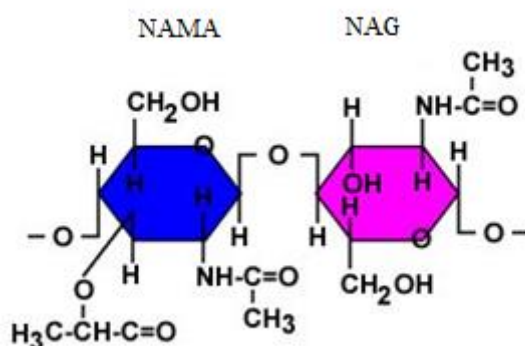


Figura 15 - Monómero do peptidoglicano (Disponível em <http://www.detectingdesign.com/antibioticresistance.html>)

1. Biosíntese do peptidoglicano e a interferência dos beta-lactâmicos

As bactérias são produzidas por divisão binária. Assim, antes desta divisão é imprescindível que elas aumentem de tamanho sendo necessário a produção de mucopeptídeo para que se possa formar uma nova parede celular. Neste processo de crescimento, a parede celular junta antigos fragmentos de peptidoglicano com os novos recém-formandos, havendo posteriormente a divisão.

Antes deste processo é necessário a síntese propriamente dita do peptidoglicano. Esta consiste em três fases, como se resume na Tabela 3:

Tabela 3 - Quadro resumo das fases da biossíntese do peptidoglicano e as respectivas características (Sousa, 2006)

Fase	Localização	Características
Fase citoplasmática	Citoplasma	Síntese de UDP-NAG e UDP-NAMA-pentapeptídeos, os “tijolos” do peptidoglicano
Fase membranar	Membrana plasmática	Transporte destes “tijolos” com recurso ao lípido membranar Bactoprenol, para a membrana plasmática e sua alteração, obtendo-se o NAG-NAMA-pentapeptídeo
Fase parietal	Periplasma	Ligação destes novos fragmentos à parede celular existente, formando pontes interpeptídicas, mediadas por D-D-carboxitranspeptidases da membrana celular bacteriana

As etapas da formação da parede celular bacteriana encontram-se representadas na Figura 16, sendo que a fase parietal da biossíntese do peptidoglicano se encontra representada no ponto 3.

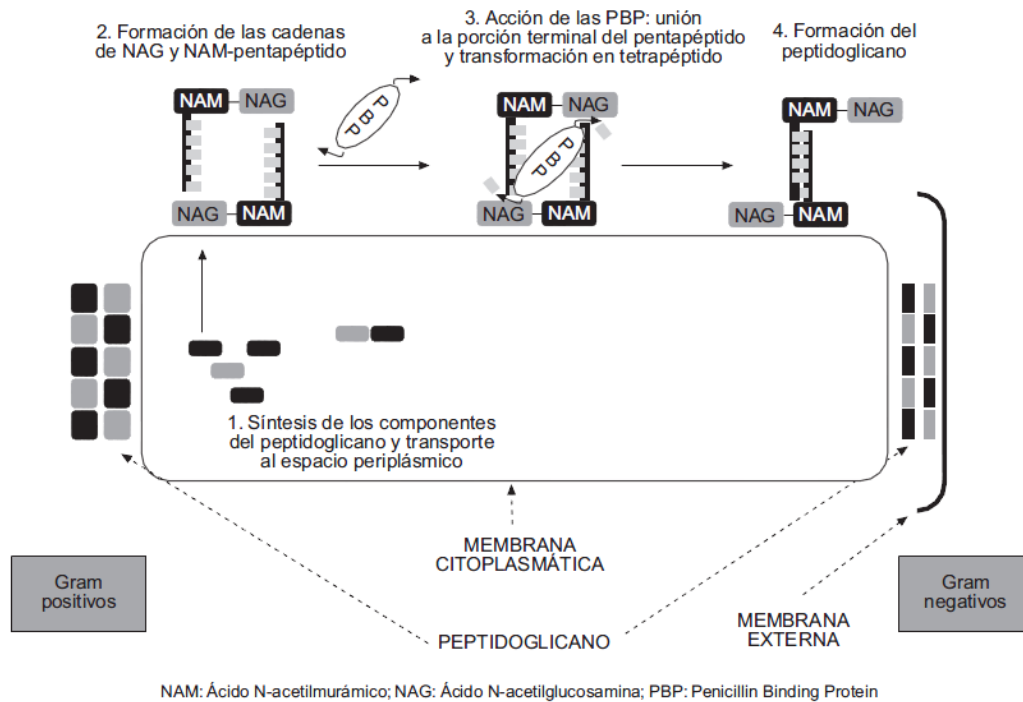


Figura 16 - Esquema da formação da parede celular (Suarez e Gudíol, 2009)

Existem diversos antibióticos que atuam na biossíntese do peptidoglicano, pois, se conseguirem que ocorra uma perturbação neste processo, vai ocorrer a lise celular, exercendo assim uma ação bacteriolítica. Podem atuar em todas as fases, por exemplo a fosfomicina atua na fase citoplasmática, enquanto os beta-lactâmicos tem o seu alvo no folheto externo da membrana celular, atuando assim na fase parietal.

Portanto, os beta-lactâmicos têm a sua ação na fase final da biossíntese do peptidoglicano. Nesta fase há a ação das autolisinas bacterianas que quebram as ligações covalentes do peptidoglicano existente, para que haja a inserção nos novos “tijolos” na parede celular. Os antibióticos beta-lactâmicos conseguem inibir irreversivelmente as D-D-carboxitranspeptidases, conhecidas por PBP’s (penicillin-binding-proteins), impedindo assim a formação das ligações entre as cadeias peptídicas de peptidoglicano (“cross-linking”). Isto acontece devido à similaridade existente entre o anel beta-lactâmico e a região dos tetrapeptídeos recém-formados onde se ligariam as PBP’s (Suarez e Gudíol, 2009). Todo este processo encontra-se esquematizado na Figura 17, A.

Assim sendo, para que os beta-lactâmicos tenham atividade é necessário que a bactéria se encontre em fase de multiplicação, visto que é neste momento que há a produção de

parede celular. Conclui-se assim que esta classe de antibióticos não é útil em situações onde o desenvolvimento bacteriano se encontra numa fase estacionária, como no caso dos abscessos. Não sendo também útil contra infeções causadas pelo *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, visto que é um grupo onde a parede celular não está presente na sua estrutura (Rolinson, 1998).

Os beta-lactâmicos têm também uma ação sobre as autolisinas bacterianas endógenas (como demonstra a Figura 17, B), conseguindo ativá-las, levando à destruição enzimática do peptidoglicano.

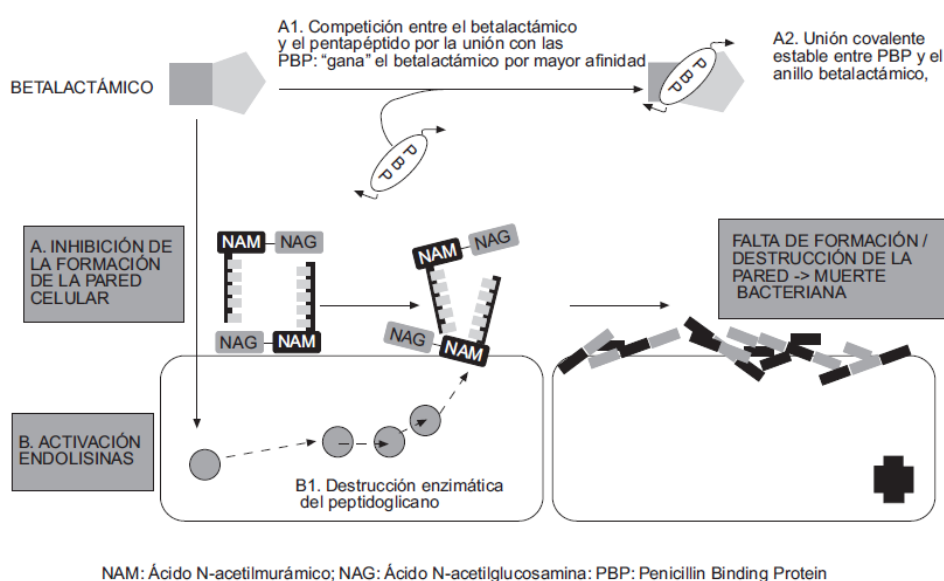


Figura 17 - Mecanismo de ação dos beta-lactâmicos. A: Inibição da formação da parede celular; B: Ativação de endolisinas (Suarez e Gudiol, 2009)

Para que estes antibióticos consigam exercer o seu efeito, é necessário que atravessem a parede celular bacteriana e se liguem às PBP's, mantendo o seu anel beta-lactâmico intacto. Dado que as bactérias Gram-negativo e Gram-positivo possuem uma estrutura diferente, é de esperar que o modo como estes penetram nas bactérias seja também diferente, tal como pode ser observado na Figura 18. Apesar de os Gram-negativo apresentarem por fora uma camada rica em lípidos, devido ao peso molecular dos beta-lactâmicos e à sua hidrofília compatível com os canais de porina, conseguem atravessar igualmente (Sousa, 2006).

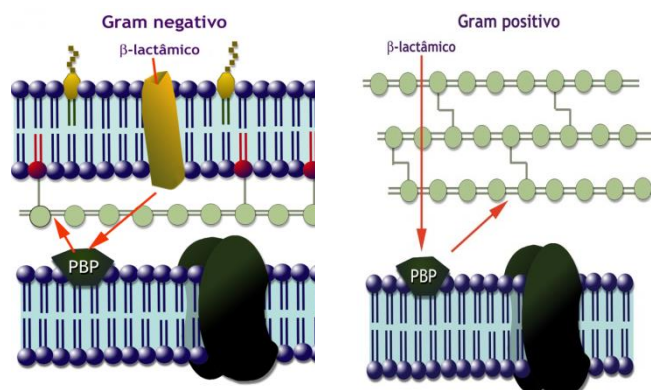


Figura 18 - Permeação da parede celular das bactérias Gram-negativo e Gram-positivo por beta-lactâmicos (Sousa, 2006)

2. Espectro de atividade antibacteriano

Em geral, os beta-lactâmicos têm atividade contra bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, havendo algumas exceções.

As penicilinas G e V são ativas contra muitas bactérias aeróbias Gram-positivo e são inerentemente mais ativas do que outras penicilinas contra cocos Gram-positivo, na ausência de mecanismos de resistências adquiridos, muito comuns em *S. aureus*. As aminopenicilinas têm a sua atividade estendida a bacilos Gram-negativo, sendo que nas carboxipenicilinas e nas ureidopenicilinas o espectro é ainda mais alargado. Muitos anaeróbios são sensíveis à penicilina, com a exceção notável do *B. fragilis* (Cavallo et al., 2004).

As cefalosporinas alargam o espectro de ação da penicilina G, incluindo os bacilos Gram-negativo aeróbios. Neste grupo, existem variações nos espectros devido às diferenças nos antibióticos, agrupados por gerações, e da sua resistência ou não às beta-lactamases (Cavallo *et al.*, 2004; Asbel e Levison, 2000).

O composto aztreonamo é ativo contra a maioria dos bacilos Gram-negativo, mas não é útil em infeções por Gram-positivo e bactérias anaeróbias.

Os carbapenemos possuem um espectro muito alargado, incluindo a maioria dos Gram-positivo, excetuando os MRSA, tal como a maioria dos Gram-negativo, excluindo o *S. maltophilia* e *B. cepacia* e praticamente todas as bactérias anaeróbias (Papp-Wallace *et al.*, 2011).

V. Farmacocinética

De acordo com o Mosby's Medical Dictionary, a palavra farmacocinética resulta da junção de duas palavras, fármaco e cinética, com o significado de:

“estudo da ação do fármaco dentro do corpo, que pode, em muitos aspetos, ser previsto mais precisamente como a ação que o corpo exerce sobre um fármaco administrado. Isto inclui estudos sobre o mecanismo de absorção, distribuição, metabolização e excreção do fármaco; início de ação; duração do efeito; biotransformação; efeitos e vias de excreção dos metabolitos do fármaco”

Além de todas estas fases que o fármaco pode sofrer, há ainda uma inicial muito importante, conhecida como a fase de libertação. Nesta fase, o fármaco liberta-se da sua fórmula farmacêutica. Só desta forma ele poderá ser posteriormente absorvido, sendo esta uma fase muito importante que influenciará todo o processo decorrente daí. As características físico-químicas do fármaco e a sua formulação (excipientes e adjuvantes que contém) e mesmo o seu processo de fabrico influenciam então a disponibilidade farmacêutica (quantidade de fármaco que se encontra na forma livre para ser absorvida). É desejável que este valor seja o mais elevado possível, devendo-se assim criar as condições para que a libertação seja total.

Uma vez administrados os fármacos passam então por 4 fases: absorção, distribuição, metabolização e excreção, tal como demonstra o esquema da Figura 19.

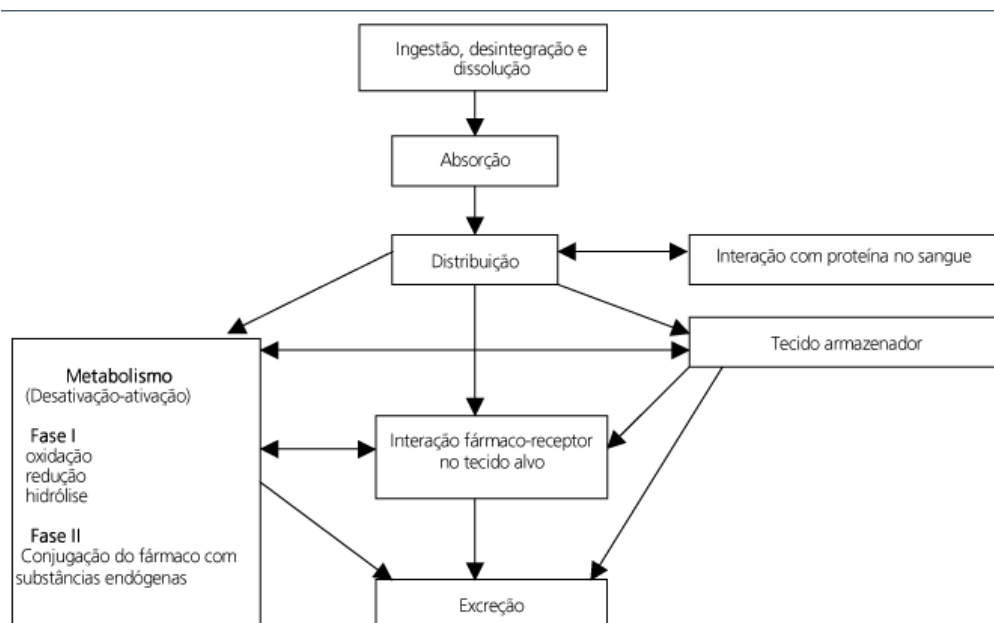


Figura 19 - Esquema generalizado da farmacocinética dos fármacos (Moura e Reyes, 2002).

1. Absorção é o processo através do qual o medicamento é transferido do local de entrada no organismo para os sistemas circulatórios, podendo ser o sanguíneo ou o linfático. A velocidade de absorção depende não só da via de administração como também do fluxo sanguíneo no local e da solubilidade do fármaco, interferindo também o seu peso molecular, a presença de radicais hidrófilos ou lipófilos, entre outros. Existem diversos fatores que influenciam a biodisponibilidade de um fármaco, isto é, a velocidade e extensão pelas quais um fármaco é libertado a partir da fórmula farmacêutica e se torna disponível no local de ação. A Tabela 4 revela alguns desses fatores.

Tabela 4 - Fatores que influenciam a biodisponibilidade de um fármaco (Moura e Reyes, 2002)

Aspetos relacionados ao fármaco	Variações individuais
Solubilidade	Idade
Tamanho da partícula	Ingestão de fluidos ou alimentos
Forma farmacêutica	Tempo de trânsito intestinal
Efeitos do fluido gastrointestinal	Metabolismo intestinal e hepático
Pka do fármaco	Patologia gastrointestinal
Natureza química (sal ou éster)	PH gastrointestinal
Circulação entero-hepática	

Como as membranas existentes no organismo são semipermeáveis (compostas por porções hidrófilas e lipófilas) é de esperar que o fator que tem mais influência neste fenómeno é a solubilidade do fármaco nos lípidos e na água. Assim sendo, o coeficiente de partilha óleo/água é muito importante para a absorção de um fármaco. Neste processo é também importante a variabilidade individual, a concentração do fármaco, o fluxo sanguíneo no local, a solubilidade da formulação (as soluções são mais solúveis do que os comprimidos), entre outros (Benet e Zia-Amirhosseini, 1995).

Os antibióticos beta-lactâmicos comportam-se na sua maioria como ácidos fracos, sendo por isso mais facilmente absorvidos quando o pH do meio é baixo, pois encontra-se na sua forma indissociada, mais lipossolúvel, sendo facilmente absorvidos. Este grupo atravessa a membrana por transporte ativo ou por difusão passiva (Sousa, 2006).

Como foi referido, a via de administração influencia o processo absorptivo. Quando um beta-lactâmico natural é administrado por via oral, ele é pouco ou nada absorvido. Apenas as formas sintéticas e semi-sintéticas, como a amoxicilina, são melhor absorvidas. Com o intuito de contornar esta situação, é necessário recorrer à via intravenosa (Suarez e Gudíol, 2009).

2. Distribuição refere-se às vias pelas quais os fármacos são transportados através dos fluidos corporais circulantes até aos locais de ação, metabolização e excreção. Uma vez dissolvido e absorvido, a distribuição do fármaco é determinada pelas propriedades químicas que apresenta e pela forma como se relaciona com o sangue e com os tecidos que contacta.

A ligação às proteínas plasmáticas, como a albumina, e a lipossolubilidade do fármaco influencia em grande escala a distribuição. Quando os antibióticos se ligam a estas proteínas, eles tornam-se mais hidrossolúveis, aumentando a sua capacidade de se dispersar pelo organismo. A extensão desta ligação varia de antibiótico para antibiótico. Quando se encontram nesta forma, os antibióticos são farmacologicamente inativos, pelo que, a extensão da ligação às proteínas plasmáticas vai influenciar não só a velocidade de atuação mas também aumentar o tempo de eliminação, visto que vai circular durante mais tempo numa forma inativa (Clayton e Stock, 2001).

Nos beta-lactâmicos esta ligação é muito variável, podendo variar entre 15% a praticamente 100%.

Quando um beta-lactâmico circula na corrente sanguínea pode atingir quase todos os pontos do organismo, em diferentes concentrações. Dependendo da afinidade que tem para o local, pode atingir concentrações séricas e tecidulares adequadas à maioria dos tecidos, tendo ainda facilidade para atravessar a barreira placentária e não atingem o olho. As penicilinas apenas conseguem atingir a barreira hemato-encefálica quando esta se encontra inflamada, enquanto as cefalosporinas de 3^a e 4^a geração, o meropenemo e o aztreonamo conseguem penetrar sempre esta barreira (Suarez e Gudiol, 2009).

A quantidade de antibiótico que circula no sangue pode ser doseada através de uma amostra, demonstrando os seus níveis séricos. Se esse nível for elevado, significa que ele não foi fixado pelos tecidos, logo encontra-se em circulação. O volume aparente de distribuição é a relação entre a quantidade total do antibiótico distribuído pelo corpo e a sua concentração no plasma. Na Tabela 5 demonstra-se a variação do volume de distribuição para cada beta-lactâmico, sendo este um dos fatores mais importantes em farmacocinética. Através deste valor, é possível determinar a quantidade de antibiótico distribuído (Levine *et al.*, 2000).

Tabela 5 - Valores aproximados de volume de distribuição de alguns beta-lactâmicos (adulto saudável de 70kg) (Sousa, 2006)

Beta-lactâmico	Volume de distribuição em litros
Amoxicilina	31,0
Ampicilina	24,3
Meticilina	22,0
Cefalexina	25,6
Cefradina	16,4
Cefuroxima	14,0

Quando o antibiótico abandona a corrente sanguínea, pode ligar-se a tecidos que não têm recetores ativos. Quanto mais lipossolúveis são, maior a sua afinidade para o tecido adiposo, funcionando como reservatório, logo a permanência deste no organismo aumenta (Clayton e Stock, 2001). Como os beta-lactâmicos são pouco lipófilos, é de esperar que a sua penetração no interior nas células seja reduzida (não passando dos 50% da concentração plasmática), o que faz deste grupo de antibióticos inadequado no tratamento de infeções intracelulares (Suarez e Gudiol, 2009).

3. Metabolização é o processo do organismo para inativar os medicamentos. Quase todos os antibióticos sofrem metabolização, tendo o organismo como intenção, aumentar a solubilidade deste para os eliminar mais facilmente. Este processo, também denominado de biotransformação, acontece especialmente no fígado, pâncreas, baço, rins e no soro sanguíneo, sendo o mais importante o sistema enzimático hepático (Sousa, 2006).

A metabolização normalmente acontece em duas fases:

- Fase I: pode haver reações de oxidação, redução, hidrólise, desaminações ou acetilações.
- Fase II: é uma fase de conjugação; o antibiótico é conjugado com componentes endógenos, como ácido glucorónico, acetato, glicina, glutatona, etc.



Metabolitos com elevada hidrossolubilidade e facilmente excretados

O metabolismo dos beta-lactâmicos é quase nulo, visto que estes se mantêm na sua forma ativa até à sua eliminação. Ainda que na sua maioria os beta-lactâmicos não sofram biotransformação, em alguns casos isso acontece. São eles:

- A cefalotina (cefalosporina de 1ºG) sofre desacetilização;
- O imipenemo (carbapenemo) sofre inativação por hidroxipeptidases nos rins;
- As penicilinas são quase todas transformadas no ácido penicilóico correspondente;

4. A eliminação dos beta-lactâmicos é efetuada pela via renal, após secreção tubular e filtração glomerular. São poucos os beta-lactâmicos que não são eliminados por esta via, tendo como alternativa a excreção biliar. São exemplos destes, a cefoperazona e a ceftriaxona (Suarez e Gudiol, 2009).

É necessário ter também em conta que existem alguns beta-lactâmicos que se apresentam minimamente lipossolúveis e podem ser reabsorvidos a nível renal, ou o

facto de haver outros compostos, como o probenecide, que bloqueie a excreção pelos túbulos.

A grande maioria dos beta-lactâmicos apresenta um curto tempo de semi-vida, com a exceção de algumas cefalosporinas, como a ceftriaxona.

A tabela 6 apresenta um quadro-resumo dos principais parâmetros farmacocinéticos de alguns dos beta-lactâmicos utilizados.

Tabela 6 - Parâmetros farmacocinéticos de alguns beta-lactâmicos (Cavallo *et al.*, 2004)

Beta-lactâmico	Via de administração	Biodisponibilidade (%)	Vd (l)	Fração livre (%)	Semi-vida (h)	Eliminação urinária (%)	Eliminação biliar (%)
Penicilina G	IM; IV	15	21-28	35-60	0,7	60-85	0,12
Penicilina V	Oral	60	35	20-45	0,5-2	30-40	1,3
Amoxicilina	Oral; IM; IV	60-90 oral; 70-90 IM;	25-28	80	1-1,5	80	5-10
Ampicilina	Oral; IM; IV	30-50 oral; 90 IM;	14-20	78-80	1-1,5	85	20
Cefalotina	IM		15-20	35-40	0,5-1,5	50-70	0
Cefuroxima	IM; IV		15-25	60-70	1,1-1,3	60	0,5
Cefotaxima	IM;IV	100	18-24	60-65	0,7-1,3	50-60	5-10
Cefepima	IV;IM		18	85-95	1,8-2,2	85-90	0
Imipenemo	IV		13,8	70-87	0,9	70	0
Aztreonamo	IV;IM		13,8	40	1,7	57-81	

VI. Farmacodinâmica

Os parâmetros farmacodinâmicos dos beta-lactâmicos têm sido muito estudados, visto estarem diretamente relacionados com a eficácia do tratamento. Segundo Mosby's Medical Dictionary, a farmacodinâmica é o estudo de como um fármaco atua no organismo vivo, incluindo as respostas farmacológicas e a duração e magnitude da resposta observada relativamente à concentração do fármaco num local do organismo.

Os beta-lactâmicos são antibióticos com atividade bactericida lenta, muito dependente da concentração do antibiótico livre no soro que tem de ser superior à concentração mínima inibitória do agente patogénico em questão (Drusano, 2007).

Considera-se que a concentração mínima inibitória (CMI) é a concentração mínima que um antibiótico necessita de ter para que consiga inibir o crescimento bacteriano.

Para a grande maioria das estirpes de bactérias sensíveis, os beta-lactâmicos comportam-se como bactericidas, visto que a CMI capaz de eliminar 99,9% das bactérias é ligeiramente superior ou mesmo igual à CBM, ou seja, à concentração bactericida mínima. A capacidade bactericida dos beta-lactâmicos é, na maioria dos casos, máxima quando o valor da concentração livre no sangue é 4 a 5 vezes superior à CMI (Mouton e Vinks, 1996). Há ainda as estirpes tolerantes, em que a CBM tem de ser 32 vezes superior à CMI, caso contrário o efeito causado é apenas bacteriostático.

Quando a concentração é superior à CMI mas inferior à CBM podem surgir estirpes resistentes ao tratamento (Suarez e Gudiol, 2009).

Devido à enorme vantagem terapêutica dos beta-lactâmicos, os investigadores viram-se obrigados a estudar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas deste grupo, de forma a melhorar a sua eficácia clínica. Testes *in vitro* demonstraram que os beta-lactâmicos têm uma ação dependente do tempo e variados efeitos pós-antibiótico (Mohd Hafiz *et al.*, 2012).

O efeito pós-antibiótico é o termo utilizado para descrever a supressão do crescimento bacteriano que persiste após a exposição dos microrganismos ao agente antimicrobiano, isto é, o tempo que dura a inibição do crescimento bacteriano após a concentração do antibiótico no sangue se encontrar inferior à necessária para que ocorra supressão. No

caso dos beta-lactâmicos este efeito é muito curto, sendo no máximo de 2 horas quando existem infeções com bactérias Gram-positivo.

Para se otimizar o efeito destes antibióticos, é necessário que o tempo (T) durante o qual a concentração livre no sangue é superior à CMI ($T > CMI$), seja controlado e adaptado entre cada estirpe bacteriana, entre cada beta-lactâmico e entre cada utente.

Como anteriormente referido, os beta-lactâmicos são eliminados rapidamente do organismo, ou seja, têm um tempo de semi-vida curto. Para que se consiga então manter a concentração superior ao CMI durante o período de tempo necessário, é imprescindível haver administrações várias vezes ao dia (Turnidge, 1998).

Observando os Gráficos 1 e 2 da Figura 20, podemos verificar que é muito mais complicado cumprir este parâmetro quando a CMI do agente bacteriano em questão é elevado.

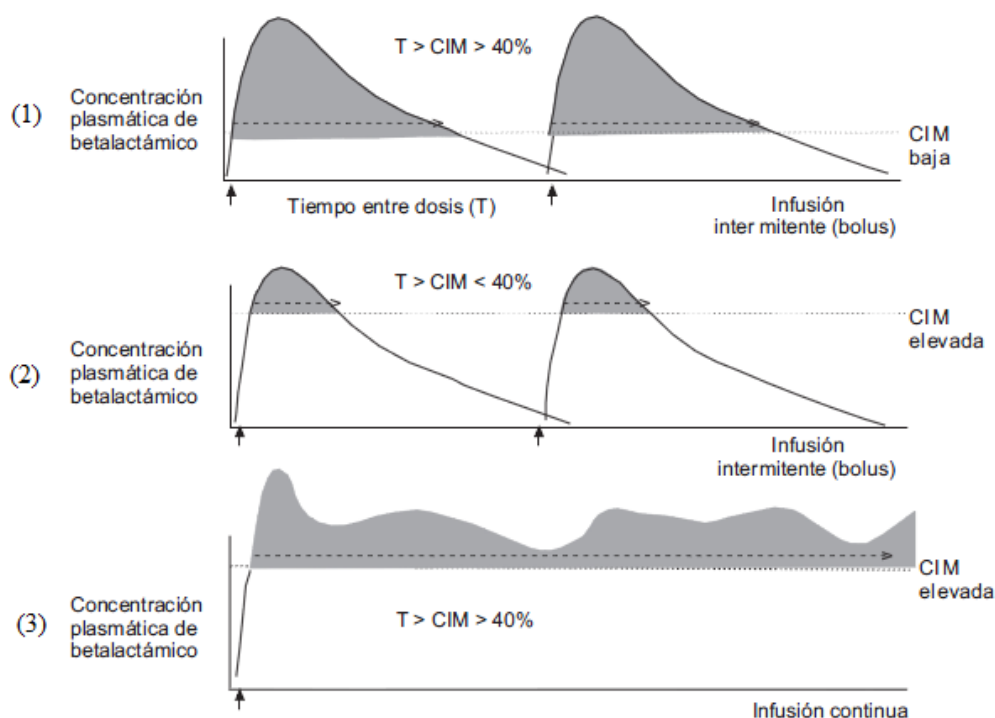


Figura 20 - Comparação do $T > CMI$ de beta-lactâmicos, em função da via de administração e da sua CMI (Suarez e Gudiol, 2009)

Quando a CMI é baixa, o $T > CMI$ é superior a 40% (Gráfico 1); se pelo contrário, a CMI for elevada, o $T > CMI$ não ultrapassa os 40% (Gráfico 2). Pode concluir-se que quanto mais elevado for o CMI, mais difícil é alcançar um T maior que a CMI pretendida

(Suarez e Gudiol, 2009). Este conceito é uma das características farmacodinâmicas mais importantes dos beta-lactâmicos, pois é recorrendo a ele que se consegue aumentar a eficácia e prever o efeito antibacteriano do antibiótico usado (Turnidge, 1998).

Analizando de novo a Figura 20, focando agora o Gráfico 3, pode observar-se que, se ao invés de haver uma infusão intermitente (com bólus), houver uma infusão contínua, o $T > CMI$ é muito mais elevado que nos restantes casos. Conclui-se então que a administração contínua ou prolongada, após uma dose de carga, de um beta-lactâmico é uma estratégia que se pode adaptar para potenciar o efeito do antibiótico utilizado. Além de que é uma forma de prevenir o aparecimento de mutações resistentes aos beta-lactâmicos, pois a concentração é sempre superior ao CMI (Suarez e Gudiol, 2009).

Devido a todas estas características dos beta-lactâmicos, associadas ao seu enorme uso na clínica, diversos foram os estudos realizados ao longo dos últimos anos, que têm o objetivo de comprovar que a administração contínua quando comparada com a administração em bólus aumenta a sua eficácia. Muitos são os estudos de simulação, mas poucos os ensaios clínicos. Um destes ensaios é o elaborado por Bodey e colaboradores, que compara a eficácia de administração intermitente versus contínua de cefamandol (cefalosporina de 2ª geração) em combinação com carbenicilina (penicilina) em administração intermitente, em pacientes neutropénicos com infeções em vários locais. Embora neste estudo consiga demonstrar uma resposta ligeiramente superior em administração contínua, a diferença entre os grupos não foi considerada estatisticamente significativa. No entanto, quando se analisa separadamente os subgrupos de pacientes infetados com bactérias suscetíveis ao cefamandol, ou aqueles com neutropenia acentuada que persiste durante a terapia, o benefício da administração contínua de cefamandol foi muito mais elevado (Bodey *et al.*, 1979).

Em resumo de todos os estudos, Craig e Ebert concluem que muitas são as vantagens da administração de antibióticos beta-lactâmicos em infusão contínua, especialmente em infeções com bacilos Gram-negativo. A administração de uma dose de carga antes de iniciar a infusão contínua eliminará a única desvantagem farmacocinética deste tipo de administração, assegurando um rápido início da sua atividade bactericida (Craig e Ebert, 1992).

A administração contínua seria mais adequada para beta-lactâmicos com pouco tempo de semi-vida que exigem frequentes administrações para conseguir assegurar uma concentração no soro e nos tecidos maior que a CMI durante o tempo necessário para produzir o efeito pretendido.

A infusão contínua pode também permitir a utilização de menores doses diárias de beta-lactâmico (Craig e Ebert, 1992).

Por exemplo, a dose diária de ceftazidima necessária para produzir níveis no soro maiores do que 4 µg/ml em todos os momentos, seria de 75 mg/kg de peso corporal, com um intervalo de administração de 8h, mas essa dose é de apenas de 20 mg/kg usando a infusão contínua (Mouton *et al.*, 1990).

Apesar de não haver nenhum estudo que demonstre que a eficácia usando infusão contínua seja muito superior à eficácia em infusão intermitente, é teoricamente aceitável que este facto seja verdadeiro, associando também os estudos em animais e os casos reportados. Muitos são ainda os estudos necessários para aclarar estas vantagens, tal como as suas desvantagens. É necessário saber mais acerca das doses de antibiótico a usar e a sua relação com o risco de aparecimento de resistências. A relação entre a concentração do antibiótico no local de ação e a CMI é um fator crítico para otimizar a terapia (Cars, 1997).

VII. Efeitos adversos

Os antibióticos beta-lactâmicos são considerados bastante seguros e inócuos para o homem devido ao seu mecanismo de ação, que, como já referido anteriormente, é específico para as células bacterianas, pois apenas estas possuem uma parede celular com peptidoglicano. Considera-se então que os beta-lactâmicos possuem baixa toxicidade direta.

Apesar disto, eles possuem alguns efeitos adversos que devem ser referenciados. Tais como:

- Irritação no local de administração;
- Gastrite (quando administrado por via oral);
- A administração intramuscular pode ser dolorosa (exemplo, injetáveis com bencilpenicilina), podendo causar flebites ou tromboflebites (cloxacilina);
- Convulsões em doses elevadas;
- Citopenias e colestases reversíveis;
- Coagulopatias;
- Distúrbios renais, como hipocalémia;
- Reações do tipo dissulfiram;
- Nefrotoxicidade;
- Neurotoxicidade;
- Hepatotoxicidade;
- Hipersensibilidade.


Além destes, outro efeito adverso habitual são as superinfecções, causadas por bactérias endógenas resistentes ao antibiótico usado ou por fungos, podendo causar diarreias, flatulência ou candidíase vaginal (Parry, 1984).

Os beta-lactâmicos provocam um tipo de reações adversas muito comum, que afeta cerca de 5% da população tratada. São estas, as reações de hipersensibilidade. Estas reações alérgicas dependem da sensibilidade individual e a sua imunogenicidade pode ser perdida com o passar do tempo. É habitual este fenómeno quando o beta-lactâmico é administrado por via parentérica (Rosário e Grumach, 2006).

Os principais sinais de reação alérgica são: edema, rubor ou dor no local de administração, urticária, congestão nasal e rinorreia, sibilos que progridem para dispneia, edema agudo do pulmão, estridor e retração esternal (Clayton e Stock, 2001).

As reações alérgicas podem ser classificadas em quatro grupos, dependendo do seu mecanismo e da sua cronologia, descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Tipos de reações imunológicas provocadas por beta-lactâmicos (Sousa, 2006)



Hipersensibilidade imediata	Anticorpos citotóxicos	Complexos imunes	Hipersensibilidade retardada
Alguns beta-lactâmicos, devido ao seu baixo peso molecular, apenas adquirem propriedades imunogénicas quando estão associadas a proteínas do soro. Na presença de anticorpos específicos, de IgE, pode ocorrer uma interação entre estes, ocorrendo a libertação de mediadores como da histamina ou serotonina, causando urticária, edema da laringe, espasmos brônquicos, podendo ocorrer colapso cardiovascular (choque anafilático). Acontece normalmente nos 15 primeiros minutos.	Este tipo de reação acontece quando há anticorpos IgG ou IgM contra a penicilina. Estes ligam-se às células sanguíneas e às células renais que estão revestidas de antígenos de penicilina. Esta reação de antígeno-anticorpo estimula a ativação do complemento, ocorrendo fenómenos de lise celular, causando assim anemias hemolíticas, leucopenia, trombocitopenia e nefrites. São comuns a partir das 72h de administração.	Por vezes podem formar-se complexos circulantes de beta-lactâmico e anticorpo, que podem ativar o complemento, causando febre. Este tipo de reação pode acontecer após o tratamento ou 7-14 dias após o início da terapêutica.	Neste caso, os antibióticos beta-lactâmicos são reconhecidos pelos linfócitos T, provocando a libertação de citocinas, aumentando a resposta imune, causando inflamações e lesões tecidulares. Podem também aparecer eritemas, fotossensibilidade, dermatites, causadas por um mecanismo desconhecido.

Os doentes com alergia à penicilina podem ter reações cruzadas com outros beta-lactâmicos, como as cefalosporinas ou aos carbapenemos. O aztreonamo é bem tolerado em doentes alérgicos (Suarez e Gudiol, 2009). Quando é detetado este tipo de hipersensibilidade, recomenda-se que esta classe de antibióticos não seja usada no sujeito em causa. Quando a necessidade é elevada, e a reação é do tipo de hipersensibilidade imediata, pode-se realizar provas de sensibilidade cutânea para confirmar a alergia (Torres *et al.*, 2003).

VIII. Interações

Todos os antibióticos utilizados na prática clínica apresentam numerosas interações, e o grupo dos beta-lactâmicos não é exceção. As principais interações estão relacionadas com a competitividade destes pela ligação às proteínas plasmáticas, afetando principalmente outros fármacos que possuam elevada afinidade para estas, e com a capacidade que alguns fármacos possuem para inibir o citocromo P450. Em qualquer um dos casos, o resultado é o aumento da sua concentração plasmática, sendo necessário ter especial atenção quando se tratam de fármacos com uma reduzida janela terapêutica, onde pequenas oscilações nas doses podem causar graves consequências (Moore *et al.*, 1999).

Algumas das principais interações medicamentosas com elevado impacto clínico são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 - Interações de alguns beta-lactâmicos (Cavallo *et al.*, 2004)

Beta-lactâmico	Associação com	Risco de ocorrência	Precauções na utilização
Penicilinas	Metotrexato	Aumento dos efeitos e da toxicidade hematológica por inibição da secreção tubular renal pelas penicilinas	Associação desaconselhada
Cefalotina	Aminoglicosídeos	Aumento da nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos	Monitorização da função renal
Cefamandole, cefoperazona, cefotetan, ceftriaxona	Anticoagulantes Orais	Aumento dos efeitos dos anticoagulantes orais e aumento do risco de hemorragias	Monitorização frequente do Tempo de Protombina e ajuste da dose do anticoagulante oral
Cefamandole, cefoperazol	Álcool	Vermelhidão, calor, vômitos, taquicardia	Evitar o consumo de álcool

Imipenemo, aztreonamo	Ácido valpróico e valpromida	Crises convulsivas por diminuição da concentração plasmática do ácido valpróico e da valpromida	Monitorização clínica das doses
--------------------------	---------------------------------	--	------------------------------------

Em relação à gravidez e aleitamento, sabe-se que é de evitar a administração de qualquer medicamento em mulheres nestas condições, porém se for decidido que o benefício é superior ao risco, pode-se administrar esta classe de antibióticos. O grupo das penicilinas é o mais seguro, apesar de alguns atravessarem a barreira placentária (como a amoxicilina) mas existem outros que não (como a dicloxacilina). As cefalosporinas devem ser apenas opção quando a infeção é muito grave e por curtos períodos de tempo. Na fase de amamentação deve preferir-se a amoxicilina, a dicloxacilina ou a oxacilina (Sousa, 2006).

IX. Resistências aos beta-lactâmicos

O sucesso na utilização de qualquer agente terapêutico é comprometido pelo potencial de tolerância ou de resistência desenvolvido pelo ser em causa a esse agente desde o primeiro momento em que é utilizado. Esta é uma verdade absoluta tanto em agentes utilizados para o tratamento de infeções bacterianas, como fúngicas, parasitárias ou mesmo virais, mas também para doenças crónicas, tais como o cancro ou a diabetes.

Uma vasta gama de processos bioquímicos e fisiológicos estão envolvidos nestes mecanismos de resistência, neste caso, referenciando as bactérias, a complexidade dos processos que contribuem para o aparecimento e disseminação das resistências não deve ser subestimada. Talvez, devido à pouca informação conhecida destes processos, torna-se difícil o seu combate. Muitas têm sido as recomendações e tentativas de resolução mas a verdade é incontestável: o desenvolvimento de resistências aos antibióticos é implacável (Davies e Davies, 2010).

A resistência aos antibióticos pode ser desenvolvida de variadas formas, mas no caso dos beta-lactâmicos, as bactérias conseguem evitar os seus efeitos devido a 4 mecanismos principais (Fernandes *et al.*, 2013), representados na Figura 21:

- Alteração do alvo antimicrobiano, devido à perda total da afinidade ou a sua simples redução;
- Redução da quantidade de beta-lactâmico que consegue atingir o alvo, por redução da sua entrada, devido a alterações na permeabilidade;
- Mutações nos canais de porina ou aumento da expulsão causado pelo bombeamento por um transportador de efluxo;
- Presença de mecanismos enzimáticos que destroem total ou parcialmente o beta-lactâmico e desenvolvimento de uma via metabólica alternativa envolvendo precursores.

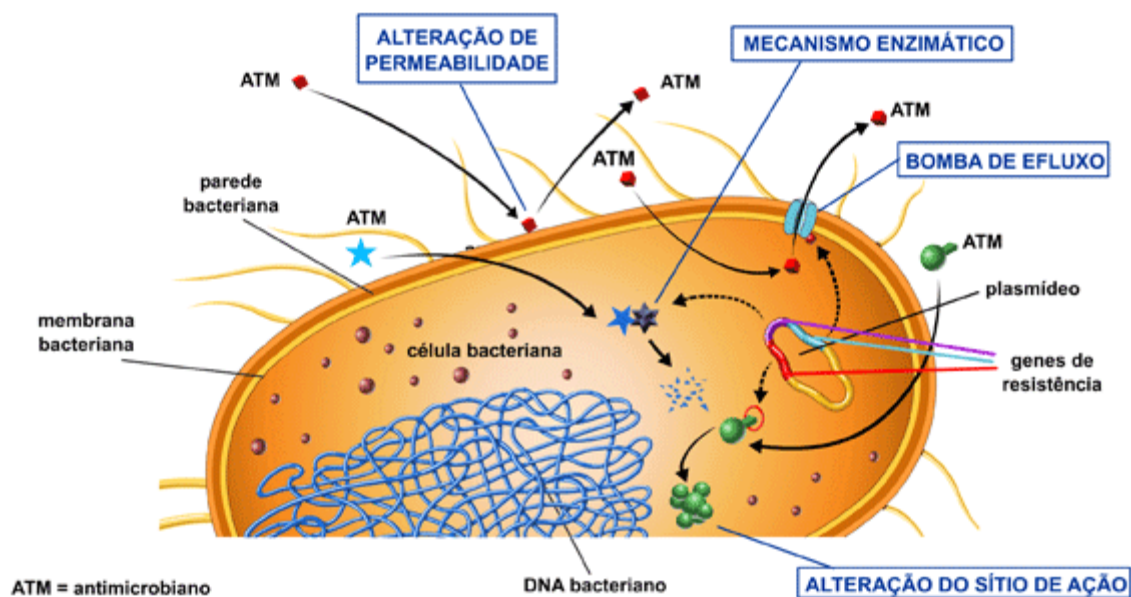


Figura 21 - Imagem ilustrativa das principais resistências desenvolvidas pelas bactérias aos antibióticos. (Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mec_animacao.htm)

1. Beta-lactamases

Infelizmente o uso dos beta-lactâmicos não é perfeito devido à existência das beta-lactamases, consideradas como as armas bacterianas mais eficazes de sempre. Estas enzimas, com capacidade de hidrolisar os beta-lactâmicos, provavelmente já existiriam antes da descoberta desta classe de antibióticos, podendo desempenhar outras funções nas bactérias. Acerca da origem destas, até hoje é aceite que são o resultado de uma conversão das PBP's por transformação genética. Foram descritas pela primeira vez por Abraham e Chain em 1940 em *E.coli* como capazes de destruir a penicilina (Zeba, 2004).

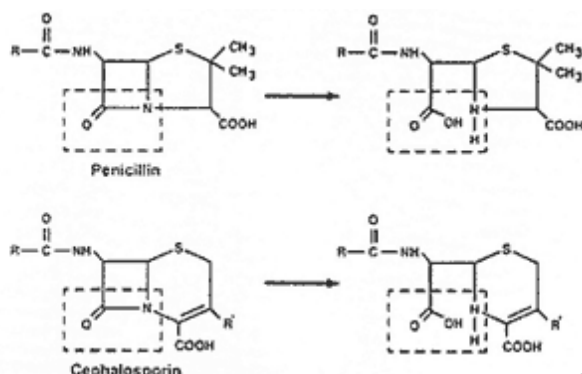


Figura 22 - Local de ataque das beta-lactamases nas penicilinas e nas cefalosporinas. (Disponível em http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Beta-Lactamases&lang=1)

As beta-lactamases são assim enzimas plasmídicas ou cromossômicas, com capacidade de hidrolisar o anel beta-lactâmico, na sua ligação CO-N, ficando este sem atividade, como demonstrado nas Figuras 22 e 23.

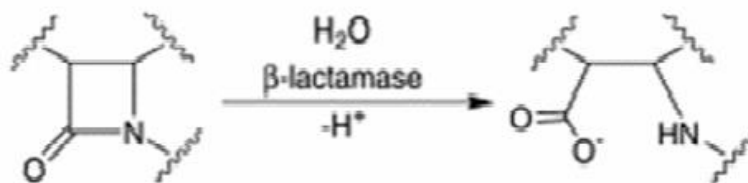


Figura 23 - Hidrólise do anel beta-lactâmico devido à atividade de uma beta-lactamase.(Zeba, 2004)

Estas enzimas são especialmente importantes em bactérias Gram-negativo, constituindo o seu principal mecanismo de defesa contra os beta-lactâmicos. Estão também presentes em Gram-positivo e anaeróbios. A produção das beta-lactamases pode ser mediada por plasmídeos ou estar cromossômicamente codificada, sendo neste caso frequentemente induzíveis (Wilke *et al.*, 2005). Quando estão relacionadas com plasmídeos, elas são facilmente transferidas entre bactérias, sendo alguns exemplos as beta-lactamases produzidas por *Staphylococcus aureus* suscetíveis à meticilina, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, algumas enterobactérias e anaeróbios, como *Bacterioides fragilis*.(Suarez e Gudiol, 2009).

Hoje em dia, estão identificadas cerca de 900 beta-lactamases, um número bastante assustador (Bush, 2010). Os nomes atribuídos a cada beta-lactamase estão normalmente relacionados com o seu substrato, com o nome do doente em que foi descoberto ou o nome do hospital onde foi isolado, ou mesmo de acordo com as suas propriedades bioquímicas. Dependendo da sua especificidade muitas vezes são denominadas de penicilases, cefalosporinases e carbapenemases (Sousa, 2006).

Na tentativa de classificar e agrupar estas enzimas, muitas foram as ideias apresentadas, sendo uma, a que se baseia na sua estrutura molecular (sequência de aminoácidos que contém), estando dividida em 4 classes, denominadas de A a D:

A: englobam as serino-beta-lactamases

B: englobam as metalo-beta-lactamases, dependentes de iões de zinco

C: englobam as beta-lactamases cromossômicas do tipo AmpC

D: englobam as oxacilinas

Esta foi a classificação proposta por Ambler em 1980 (Ambler, 1980). Mais recentemente, Bush, Jacob e Medeiros incluem nesta classificação as novas beta-lactamases e sugerem uma nova classificação, onde se relaciona o perfil dos substratos e dos inibidores com a sua estrutura molecular (Bush *et al.*, 1995), tal como demonstra a Tabela 9:

Tabela 9 - Descrição resumida da classificação proposta por Bush (Bush et al., 1995)

Sistema de Bush	Classificação de Ambler	Perfil de substratos	Perfil de inibidores		Exemplos
			AC	EDTA	
1	C	Cefalosporinas	-	-	Enzimas do tipo AmpC, MIR-1
2a	A	Penicilinas	+	-	Penicilinas de bactérias Gram-positivo
2b	A	Penicilinas e cefalosporinas	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV1
2be	A	Penicilinas e cefalosporinas e monobactâmicos	+	-	TEM-3 a TEM-26, SHV-2 a SHV-6, K1
2br	A	Penicilinas	?	-	TEM-30 a TEM-36
2c	A	Penicilinas e carbenicilina	+	-	PSE-1, PSE-3, PDE-4
2d	D	Penicilinas e cloxacilina	?	-	OXA-A a OXA-11
2e	A	Cefalosporinas	+	-	Cefalosporinas indutível de <i>Proteus vulgaris</i>
2f	A	Penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos	+	-	NMC-A, Sme-1
3	B	Maioria dos beta-lactâmicos, incluindo carbapenemos	-	+	L1, CcrA
4	ND	Penicilinas	-	?	Penicilinas de <i>Pseudomonas cepacia</i>

AC: ácido clavulânico; ND: não definido

i. Serino-beta-lactamases

As serino-beta-lactamases são as enzimas que possuem no seu centro ativo serina, e pertencem aos grupos A, C e D na classificação de Ambler. Estas, acilam os beta-lactâmicos e quebram a ligação amida do anel beta-lactâmico, devido ao ataque nucleofílico do grupo -OH da serina com o grupo C do anel. Desta reação, forma-se um intermediário acil-enzima, ocorrendo desacilação, como retrata a Figura 24.

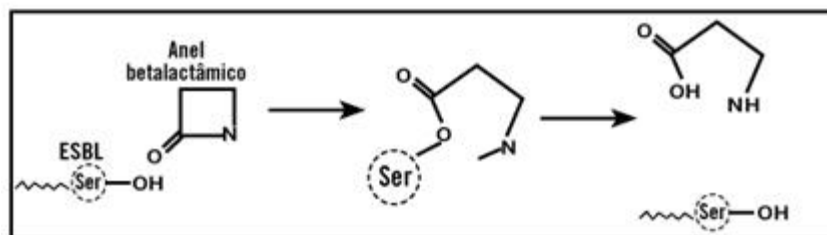


Figura 24 - Mecanismo de inativação dos beta-lactâmicos por beta-lactamases com serina no seu centro ativo (Silva e Lincopan, 2012).

As extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), também denominadas de beta-lactamases de largo espectro pertencem a este grupo que contém serina no centro ativo, pertencendo à classe A na classificação de Ambler. Desde a descoberta da primeira ESBL tem-se verificado que a sua incidência tem aumentado. Estas são produzidas na sua maioria por *E.coli* e *K.pneumoniae*. (Rawat e Nair, 2010).

A maioria destas enzimas são derivadas das TEM-1, TEM-2 e SHV-1, tendo ocorrido mutações no seu centro ativo, expandindo o espectro de ação das enzimas. Neste momento são conhecidas mais de 150 TEM's e 50 SHV's. Outras famílias de ESBL são: CTX-M, OXA, PER, VEB, TLA, GES, BES e SFO.

As beta-lactamases AmpC também pertencem ao grupo das serino-beta-lactamases, sendo o grupo C da classificação de Ambler. Este grupo é importante pois é resistente aos inibidores das beta-lactamases e hidrolisam a maioria dos antibióticos beta-lactâmicos, sendo denominados de cefalosporinas (Sousa, 2006; Hanson, 2003).

ii. Metalo-beta-lactamases

Esta classe de beta-lactamases corresponde assim ao grupo B da classificação de Ambler, e utilizam iões divalentes, normalmente o zinco, como co-factor para a sua

atividade catalítica. São atualmente uma das classes com mais destaque, devido ao seu largo espectro de ação, ou seja à sua capacidade de hidrolisar todos os beta-lactâmicos existentes até hoje, incluindo os carbapenemos. Os monobactams, como o aztreonam são os únicos que estas beta-lactamases não hidrolizam (Bertoncheli e Horner, 2008).

De acordo com a classificação de Bush, esta classe 3 pode ser dividida em três subgrupos:

- 3a - metalo-beta-lactamases de amplo espectro de atividade;
- 3b - beta-lactamases que inibem essencialmente os carbapenemos,
- 3c - beta-lactamases que inibem fracamente os carbapenemos

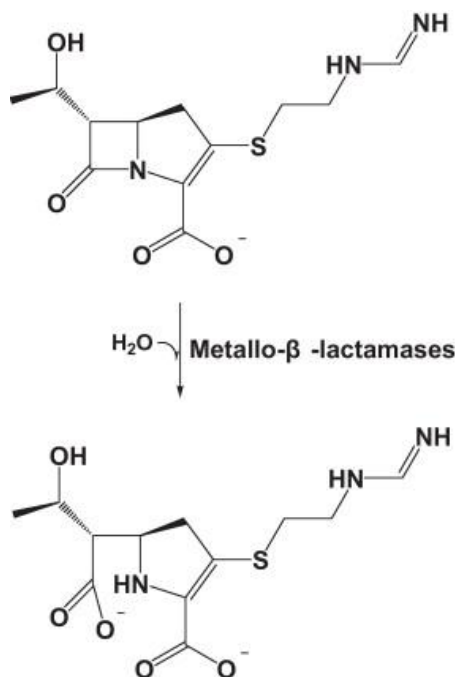


Figura 25 - Hidrólise do imipenemo por uma metalo-beta-lactamase (Zhai *et al.*, 2012)

Como pode ser observado na Figura 25, o ataque da metalo-beta-lactamase ao imipenemo faz-se de forma direta, diferenciando-se assim das serino-beta-lactamases, pois não há a formação do intermediário peniciloilenzima.

Algumas carbapenemases, nome atribuído a enzimas que degradam quase todos os beta-lactâmicos existentes, pertencem a este grupo. Sendo as mais relevantes em clinica: IMP, VIM, e SPM.

Outras carbapenemases podem pertencer então ao grupo das serino-beta-lactamases, tanto da classe A, como as SME e KPC, como da classe D na classificação de Ambler.

2. Modificação dos alvos (PBP's)

Um dos mecanismos de resistência desenvolvido pelas bactérias frente aos beta-lactâmicos é a modificação do seu alvo. Assim, para que exerçam a sua atividade, os beta-lactâmicos necessitam de se ligar às penicilin-binding-protein (PBP) existentes no folheto exterior da membrana citoplasmática (alvo). O tipo e o número de PBP's existente em cada bactéria varia de espécie para espécie.

Para que se tornem resistentes, as bactérias promovem alterações nestes alvos, tais como mutações, hiper-expressão e modificação da sua afinidade, diminuindo drasticamente a atividade dos beta-lactâmicos (Suarez e Gudiol, 2009).

É o principal mecanismo de resistência de algumas estirpes Gram-positivo, tais como *S. pneumoniae*, *S. aureus* resistente à meticilina e *Enterococcus faecium*.

O exemplo mais importante deste tipo de alteração é o caso dos *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina, os MRSA. Por definição, a presença do gene *mecA* é responsável pelo fenótipo de resistência à meticilina em *Staphylococcus*. Na sua natureza, o *S. aureus* tem quatro PBP's, designados de 1,2,3 e 4. Quando presente, o gene *mecA* codifica um PBP diferente dos outros endógenos, com diferente peso molecular, designado de PBP2a, com uma atividade enzimática normal. No entanto, o PBP2a possui o local de reconhecimento para os antibióticos beta-lactâmicos, mas este encontra-se modificado, possuindo baixa afinidade para estes. Assim, na presença do beta-lactâmico, todos os outros PBP's encontram-se inativados, exceto este, que continua a promover a síntese celular (Gordon e Lowy, 2008).

As cefalosporinas de 5ª geração, nomeadamente a ceftaroline e o ceftobiprole, conseguem ultrapassar esta resistência apresentada pelos MRSA. Estes possuem afinidade para todos os PBP's, incluindo o PBP2a. Assim, estes beta-lactâmicos inibem todos os PBP's exercendo a sua atividade antibiótica (Saravolatz *et al.*, 2011).

3. Impermeabilização da membrana externa

Um outro mecanismo é então a alteração na permeabilidade da membrana externa. A permeabilidade limitada constitui uma propriedade da membrana externa, constituída por lipopolissacarídeos, nas bactérias Gram-negativo. As substâncias pouco lipófilas, como os beta-lactâmicos, necessitam de atravessar a membrana externa através de canais específicos (canais de porina), para entrarem no espaço periplasmático e em seguida para o interior da célula para se ligarem aos PBP's (Godfrey e Bryan, 1987). A permeabilidade limitada é responsável pela resistência intrínseca dos bacilos Gram-negativo à penicilina, e pela resistência de *Pseudomonas aeruginosa* ao trimetoprim .

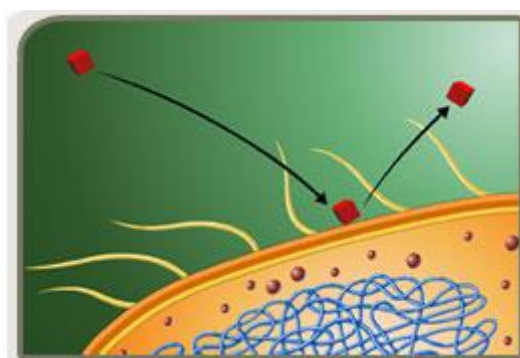


Figura 26 - Ilustração do comportamento do beta-lactâmico em contacto com uma membrana externa impermeável. (Disponível em

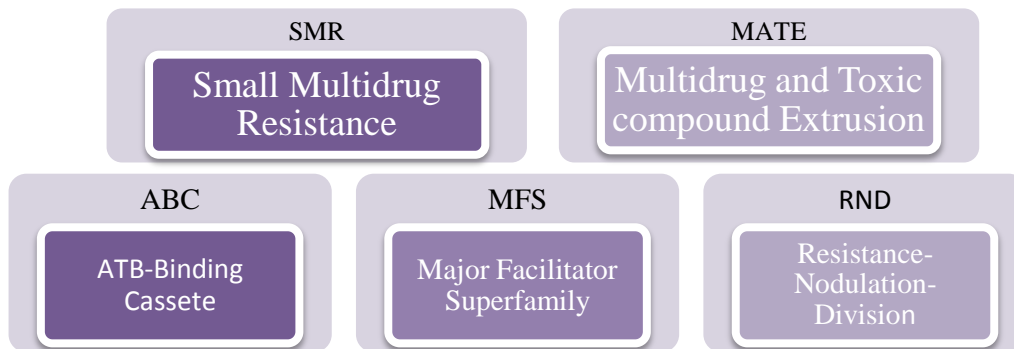
http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/image/aliteracao_permeabilidade.jpg)

As bactérias utilizam então a estratégia de alteração de permeabilidade na aquisição de resistência. Assim, uma alteração numa porina específica da membrana externa, por exemplo na *P.aeruginosa*, se houver alteração na porina pela qual o imipenemo geralmente se difunde, pode fazer com que o antibiótico não atinja o seu alvo, tornando *P.aeruginosa* resistente ao imipenemo.

4. Bombas de efluxo

O bombeamento ativo dos beta-lactâmicos do meio intracelular para o extracelular (efluxo ativo) produz resistência bacteriana. São proteínas específicas que bombeiam o antibiótico para o exterior, fazendo com que a concentração no meio intracelular seja mais reduzida que a necessária para ocorrer efeito antibacteriano (Fernandes *et al.*, 2013).

Existem várias famílias de bombas de efluxo, agrupadas dependendo da sequência de aminoácidos que contém, e que são predominantes em diferentes tipos de bactérias. Podem classificar-se então cinco famílias: SMR, MATE, ABC, MFS e RND. Dentro de cada família existem diversas bombas de efluxo, como por exemplo na MFS existe a NorA e a Bmr, enquanto que na família RND existem as bombas AcrB, MexB, entre muitas outras (Sousa, 2006).



X. Uso clínico dos antibióticos beta-lactâmicos



Figura 27 - Parâmetros a ter em conta na escolha de um antibiótico para tratamento

Segundo o Infarmed no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos, a prescrição de um antimicrobiano pode ser um dos mais complexos atos da terapêutica medicamentosa pelas variáveis envolvidas, onde se insere a tríade: agente, hospedeiro e fármaco, sendo necessário tomar atenção a todos os parâmetros referenciados no diagrama da Figura 27.

Para que o tratamento de uma infecção seja o mais correto, é então necessário que o antibiótico usado seja o mais indicado (é imprescindível que a bactéria causadora da infecção seja suscetível a ele), e que a via de administração utilizada seja a mais indicada. Também é necessário ter especial atenção ao estado de saúde do hospedeiro, bem como possíveis reações adversas.

A lista de infecções onde se podem utilizar os beta-lactâmicos é extensa: otites do ouvido médio e externo, infecções articulares, cardíacas, biliares, amigdalites, faringites, infecções brônquicas, pulmonares, entre muitas outras, causadas por inúmeras bactérias. Esta família de antibióticos além do seu largo espectro de ação possui características farmacocinéticas que os tornam muitos úteis, tal como uma boa distribuição nos fluídos e tecidos corporais, alguns terem a capacidade de penetrar a barreira hemato-encefálica, serem na sua maioria excretados por via urinária, entre outras.

Na Tabela 10 apresentam-se alguns beta-lactâmicos e o respetivo uso, segundo o Prontuário Terapêutico 11, do INFARMED.

Tabela 10 - Indicação terapêutica de alguns beta-lactâmicos (adaptado de Prontuário Terapêutico 11)

Antibiótico	Indicação terapêutica
Benzilpenicilina Benzatínica	Infeções devidas a <i>Streptococcus pyogenes</i> , sífilis e profilaxia da febre reumática.
Benzilpenicilina Potássica	Infeções por agentes penicilino-sensíveis, nomeadamente faringite, amigdalite, otite média, pneumonia, endocardite estreptocócica e meningite meningocócica ou pneumocócica.
Amoxicilina	Profilaxia da endocardite bacteriana. Tratamento da úlcera péptica (erradicação do <i>Helicobacter pylori</i>) em associação com outros antimicrobianos e inibidores da secreção ácida gástrica
Ampicilina	Infeções respiratórias. Bronquite crónica. Otite média. Sinusite. Infeções urinárias. Infeções devidas algumas estirpes de <i>Salmonella</i> . Gonorreia.
Cefaclor	Infeções devidas a microrganismos Gram-positivo e Gram-negativo suscetíveis, nomeadamente infeções urinárias, faringites, sinusites, infeções respiratórias, infeções da pele e tecidos moles e amigdalites. O cefaclor apresenta uma boa actividade contra o <i>H. influenzae</i> .
Cefotaxima	Infeções graves particularmente devidas a bactérias Gram-negativo multirresistentes. Meningites bacterianas devidas a Gram-negativo
Aztreonamo	Infeções graves devido a bactérias Gram-negativo.
Imipenemo	Infeções nosocomiais graves devido a microrganismos multirresistentes Gram-positivo, Gram-negativo ou anaeróbios.
Amoxicilina com ácido clavulânico	Infeções respiratórias. Bronquite crónica. Otite média. Sinusite. Infeções urinárias. Infeções por <i>Salmonella</i> . Gonorreia. Pode ser útil no tratamento de infeções respiratórias por <i>H. influenzae</i> resistentes à ampicilina/amoxicilina, particularmente em doentes com DPOC.

XI. Conclusão

Atualmente, a sociedade corre o risco de ficar sem antibióticos eficientes. A sua eficácia está a diminuir drasticamente, devido ao uso inapropriado e abusivo de antibióticos desde a sua descoberta. Entre 1940 e 1962, mais de 20 novas classes de antibióticos foram comercializados. Desde então, apenas duas novas classes entraram no mercado. O grande problema surge com o aparecimento de resistências das bactérias até 10-20 anos atrás (Coates *et al.*, 2002). Agora, os antibióticos existentes não são suficientes para combater estas resistências, principalmente quando estão envolvidas bactérias Gram-negativo.

Segundo Coates e colaboradores estão em desenvolvimento 27 novos compostos, entre os quais beta-lactâmicos, mas também novas classes. Na Tabela 11 estão descritos alguns desses novos compostos em desenvolvimento. Afirmam ainda que para combater o curso das resistências bacterianas será necessário produzir mais 20 novas classes de antibióticos para servir o mundo durante cerca de 60 anos. Se isso não acontecer, o mais provável é resultar numa medicina sem antibióticos eficazes (Coates *et al.*, 2011).

Tabela 11 - Novos beta-lactâmicos em estudo (Coates *et al.*, 2011)

Classe	Produto	Espetro	Fase	Companhia
Penicilina	CXA-101	MDR <i>P. aeruginosa</i> e enterobacteriaceae suscetíveis	II	Cubist
Penicilina / inibidor das beta-lactamases	CXA-101/tazobactam (CXA-201)	MDR <i>P. aeruginosa</i> e enterobacteriaceae, excluindo as metalo-beta-lactamases	I	Cubist
Cefalosporina / inibidor de beta-lactamases	Ceftaroline /NXL104	MRSA e MDR enterobacteriaceae, excluindo as metalo-beta-lactamases	II	AstraZeneca / Forest
Cefalosporina / inibidor de beta-lactamases	Ceftazidime /NXL104	MRSA e MDR enterobacteriaceae, excluindo as metalo-beta-lactamases	III	AstraZeneca / Forest
Carbapenemo / inibidor de beta-lactamases	Imipenemo / MK-7655	MDR <i>P. aeruginosa</i> e enterobacteriaceae excluindo as metalo-beta-lactamases; <i>Acinetobacter</i>	II	Merck & Co
Sulfactam	BAL3007	MDR <i>P. aeruginosa</i> ,	Pré-	Basilea

(monobactâmico)	2	<i>Acinetobacter</i> , incluindo as metalo-beta-lactamases e enterobacteriaceae	clínico	
Monobactâmico / carbapenemo	BAL30072 / meropenemo	Maioria das MDR Gram-negativo incluindo as enterobacteriaceae resistentes e anaeróbios	Pré-clínico	Basilea

Segundo o Relatório do Fórum Económico Mundial, a crescente resistência aos antibióticos é a maior ameaça da atualidade à Saúde Pública, sendo que cerca de 25 mil pessoas por ano morrem na Europa por infeções causadas por bactérias resistentes a antibióticos. Estes números são ainda maiores na China (80 mil) e nos Estados Unidos (100 mil) tendo a tendência para aumentar na próxima década.

Em Portugal foram criados programas com o intuito de tentar diminuir esta tendência, tal como o Programa de prevenção das resistências aos antimicrobianos, da responsabilidade da Direção-Geral da Saúde.

Além destes programas, é importante haver um apoio por parte dos governos, é necessário que haja financiamento, legislação e incentivos à indústria para que estas voltem aos estudos para tentar criar novos antibióticos capazes de ultrapassar as barreiras da atualidade. A indústria precisa de reentrar no mercado numa escala muito maior e as universidades devem apoiar estas investigações.

A Organização Mundial de Saúde elabora um relatório denominado de Resistência Antimicrobiana - Relatório Global sobre Vigilância, onde Keiji Fukuda conclui: “o mundo está a caminhar para uma era pós-antibiótico, em que as infeções comuns e os pequenos ferimentos, tratáveis há décadas, podem voltar a matar”.

XII. Bibliografia

- Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B: Biological Sciences*, 289, pp. 321-331.
- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1, pp. 134.
- Asbel, L. E. e Levison, M. E. (2000). Cephalosporins, carbapenems, and monobactams. *Infectious Disease Clinics of North America*, 14, pp. 435-447, ix.
- Benet, L. Z. e Zia-Amirhosseini, P. (1995). Basic Principles of Pharmacokinetics. *Toxicologic Pathology*, 23, pp. 115-123.
- Bertoncheli, C. D. M. e Horner, R. (2008). Uma revisão sobre metalo- β -lactamases. *Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas*, 44, pp. 577-599.
- Bodey, G. P.; Ketchel, S. J. e Rodriguez, V. (1979). A randomized study of carbenicillin plus cefamandole or tobramycin in the treatment of febrile episodes in cancer patients. *The American Journal of Medicine*, 67, pp. 608-616.
- Bradley, J. S., *et al.* (1999). Carbapenems in clinical practice: a guide to their use in serious infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11, pp. 93-100.
- Bush, K. (2010). Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Critical Care*, 14, pp. 224.
- Bush, K.; Jacoby, G. A. e Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, pp. 1211-1233.
- Canesqui, A. M. (2003). Os estudos de antropologia da saúde/doença no Brasil na década de 1990. *Ciência & Saúde Coletiva*, 8, pp. 109-124.
- Cars, O. (1997). Efficacy of beta-lactam antibiotics: Integration of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 27, pp. 29-33.
- Cavallo, J. D., *et al.* (2004). Bêtalactamines. *EMC - Maladies Infectieuses*, 1, pp. 129-202.
- Clayton, B. e Stock, Y. (2001). *Fundamentos de Farmacologia*. Loures

Lusociência

Coates, A., *et al.* (2002). The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1, pp. 895-910.

Coates, A. R.; Halls, G. e Hu, Y. (2011). Novel classes of antibiotics or more of the same? *British Journal of Pharmacology*, 163, pp. 184-194.

Craig, W. e Ebert, S. (1992). Continuous infusion of beta-lactam antibiotics. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 36, pp. 2577-2583.

Davies, J. e Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74, pp. 417-433.

Drusano, G. L. (2007). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antimicrobials. *Clinical Infectious Diseases*, 45, pp. S89-S95.

Fernandes, R.; Amador, P. e Prudêncio, C. (2013). β -Lactams: chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. *Reviews in Medical Microbiology*, 24, pp. 7-17.

Georgopapadakou, N., *et al.* (1983). Binding of monobactams to penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: relation to antibacterial activity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 23, pp. 98-104.

Godfrey, A. J. e Bryan, L. E. (1987). Penetration of beta-lactams through *Pseudomonas aeruginosa* porin channels. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 31, pp. 1216-1221.

Gordon, R. J. e Lowy, F. D. (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*, 46, pp. S350-S359.

Hanson, N. D. (2003). AmpC β -lactamases: what do we need to know for the future? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52, pp. 2-4.

Katz, M. L., *et al.* (2006). Where have all the antibiotic patents gone? *Nature Biotechnology* 24, pp. 1529-1531.

Koyama, N.; Inokoshi, J. e Tomoda, H. (2012). Anti-infectious agents against MRSA. *Molecules*, 18, pp. 204-224.

Kresge, N.; Simoni, R. D. e Hill, R. L. (2004). Selman Waksman: the Father of Antibiotics. *Journal of Biological Chemistry*, 279, pp. e7.

- Lee, N. S.; Yuen, K. Y. e Kumana, C. R. (2001). B-lactam antibiotic and β -lactamase inhibitor combinations. *Journal of the American Medical Association*, 285, pp. 386-388.
- Leekha, S.; Terrell, C. L. e Edson, R. S. (2011). General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*, 86, pp. 156-167.
- Levine, R. R.; Walsh, C. T. e Schwartz-Bloom, R. D. (2000). *Pharmacology: drug actions and reactions*. CRC Press.
- Ligon, B. L. (2004). Penicillin: its discovery and early development. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 15, pp. 52-57.
- Mohd Hafiz, A. A., *et al.* (2012). Continuous infusion vs. bolus dosing: implications for beta-lactam antibiotics. *Minerva Anestesiologica*, 78, pp. 94-104.
- Moore, P. A., *et al.* (1999). Adverse drug interactions in dental practice. Professional and educational implications. *Journal of the American Dental Association*, 130, pp. 47-54.
- Moura, M. R. L. e Reyes, F. G. R. (2002). Interação fármaco-nutriente: uma revisão. *Revista de Nutrição*, 15, pp. 223-238.
- Mouton, J. W., *et al.* (1990). Pharmacokinetics of ceftazidime in serum and suction blister fluid during continuous and intermittent infusions in healthy volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, pp. 2307-2311.
- Mouton, J. W. e Vinks, A. A. (1996). Is continuous infusion of beta-lactam antibiotics worthwhile?--efficacy and pharmacokinetic considerations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 38, pp. 5-15.
- Muñiz, C. C., *et al.* (2007). Penicillin and cephalosporin production: A historical perspective. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 49, pp. 88-98.
- Papp-Wallace, K. M., *et al.* (2011). Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 4943-4960.
- Parry, M. F. (1984). Toxic and adverse reactions encountered with new beta-lactam antibiotics. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 60, pp. 358-368.
- Queenan, A. M. e Bush, K. (2007). Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, pp. 440-458.

- Rawat, D. e Nair, D. (2010). Extended-spectrum beta-lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2, pp. 263-274.
- Rolinson, G. N. (1998). Forty years of beta-lactam research. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 41, pp. 589-603.
- Rosário, N. A. e Grumach, A. S. (2006). Alergia a beta-lactâmicos na clínica pediátrica: uma abordagem prática. *Jornal de Pediatria*, 82, pp. S181-S188.
- Saravolatz, L. D.; Stein, G. E. e Johnson, L. B. (2011). Ceftaroline: a novel cephalosporin with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical infectious diseases*, 52, pp. 1156-1163.
- Scheffers, D.-J. e Pinho, M. G. (2005). Bacterial Cell Wall Synthesis: New Insights from Localization Studies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69, pp. 585-607.
- Sharma, S.; Singh, L. e Singh, S. (2011). Comparative Study between Penicillin and Ampicillin.
- Silhavy, T. J.; Kahne, D. e Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2, pp. a000414.
- Silva, K. C. D. e Lincopan, N. (2012). Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 48, pp. 91-99.
- Sousa, J. C. (2006). *Manual de Antibiótico Antibacterianos*. Porto, Fundação Fernando Pessoa.
- Suarez, C. e Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiologia Clinica*, 27, pp. 116-129.
- Talbot, G. H. (2013). beta-Lactam antimicrobials: what have you done for me lately? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277, pp. 76-83.
- Torres, M. J., *et al.* (2003). Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Allergy*, 58, pp. 961-972.
- Turnidge, J. D. (1998). The pharmacodynamics of beta-lactams. *Clinical Infectious Diseases*, 27, pp. 10-22.

Vollmer, W.; Blanot, D. e De Pedro, M. A. (2008). Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiology Reviews*, 32, pp. 149-167.

Wilke, M. S.; Lovering, A. L. e Strynadka, N. C. (2005). β -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current opinion in microbiology*, 8, pp. 525-533.

Wright, A. J. (1999). The Penicillins. *Mayo Clinic Proceedings*, 74, pp. 290-307.

Zeba, B. (2004). Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 4.

Zhai, L., *et al.* (2012). Thermokinetic characterization of imipenem hydrolysis with metallo- β -lactamase CcrA from *Bacteroides fragilis*. *Thermochimica Acta*, 539, pp. 67-70.